

321094-
2

농축산용

미생물제품

성능

조사

표준

모델

개발

2023

농림축산식품부

농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)
유용농생명자원산업화기술개발사업 2022년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004380-01

농축산용 미생물제품 성능 조사 표준 모델 개발

2023.05.30.

주관연구기관 / (재)농축산용미생물산업육성지원센터
협동연구기관 / 단국대학교 천안 산학협력단

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

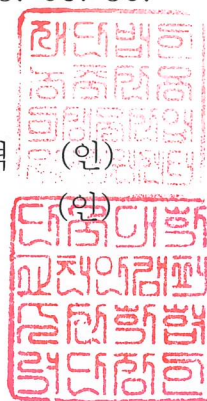
제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “농축산용 미생물제품 성능 조사 표준 모델 개발”(개발기간 : 2021. 04.
~ 2022. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2023. 05. 30.

주관연구기관명 : (재)농축산용미생물산업육성지원센터장 김대혁 (인)
협동연구기관명 : 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단장 백동헌 (인)



주관연구책임자 : 김 양 선

협동연구책임자 : 박 재 흥

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

최종보고서							보안등급					
							일반[√], 보안[]					
중앙행정기관명	농림축산식품부		사업명	사업명		유용농생명자원산업화기술개발사업						
전문기관명	농림식품기술기획평가원			내역사업명		-						
광고번호	농축2021-24호		총괄연구개발 식별번호		-							
			연구개발과제번호		321094-2							
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0302	40%	LB0304	30%	LB0605	30%					
	농림식품과학기술분류	RA0304	40%	AA0203	30%	AB0201	30%					
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문	-									
		영문	-									
연구개발과제명		국문	농축산용 미생물제품 성능 조사 표준 모델 개발									
		영문	Development of standard model for research on the performance of agricultural microbial products									
주관연구개발기관		기관명	(재)농축산용미생물산업육성지원센터		사업자등록번호		624-82-00030					
		주소	(우)56512, 전북 정읍시 첨단과학로 241		법인등록번호		211222-0006871					
연구책임자		성명		김양선		직위		팀장				
		연락처	직장전화	[REDACTED]		휴대전화		[REDACTED]				
			전자우편	[REDACTED]		국가연구자번호		[REDACTED]				
연구개발기간		전체		2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(1년 9개월)								
		1단계		1년차		2021. 04. 01 - 2021. 12. 31(1년 9개월)						
				2년차		2022. 01. 01 - 2022. 12. 31(1년 12개월)						
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금				합계		연구개발비 외 지원금	
					지방자치단체		기타					
				현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	합계	
		총계		525,000	-	-	-	-	-	525,000	-	525,000
1단계		1년차		225,000	-	-	-	-	225,000	-	225,000	-
		2년차		300,000	-	-	-	-	300,000	-	300,000	-
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명		책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고				
								역할	기관유형			
공동연구개발기관		단국대학교 천안 산학협력단		박재홍	부교수	[REDACTED]	[REDACTED]			대학		
위탁연구개발기관		건국대학교 산학협력단		김수기	교수	[REDACTED]	[REDACTED]			대학		
연구개발담당자 실무담당자		성명		김정애		직위		선임연구원				
		연락처	직장전화	[REDACTED]		휴대전화		[REDACTED]				
			전자우편	[REDACTED]		국가연구자번호		[REDACTED]				

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2023년 05월 30일

연구책임자: 김 양 선 (인)
주관연구개발기관의 장: (재)농축산용미생물산업육성지원센터장 (직인)
공동연구개발기관의 장: 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단장 (직인)
위탁연구개발기관의 장: 건국대학교 산학협력단장 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		유용농생명자원산업화 기술개발사업		총괄연구개발 식별번호		-	
내역사업명		-		연구개발과제번호		321094-2	
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0302	40%	LB0304	30%	LB0605	30%
	농림식품 과학기술분류	RA0304	40%	AA0203	30%	AB0201	30%
총괄연구개발명							
연구개발과제명		농축산용 미생물 제품 성능 조사 표준 모델 개발					
전체 연구개발기간		2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(1년 9개월)					
총 연구개발비		총 525,000 천원 (정부지원연구개발비: 525,000천원, 기관부담연구개발비: 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형		-					
연구개발과제 특성		-					
연구개발 목표 및 내용	최종 목표		농축산용 미생물 제품 성능 및 품질평가 표준 모델 확보				
	전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> • 국내외 유통 미생물제제 현황 조사 및 확보 • 작물용 미생물제제 효능 및 품질 평가 • 축산용 미생물제제 효능 및 품질 평가 • 농축산용 미생물 제품 성능 평가 모델 확보 및 매뉴얼 제작 				
	1단계 (해당 시 작성)	목표	<ul style="list-style-type: none"> • 작물용 미생물제품 성능 평가 모델 개발 3건 • 축산용 미생물제제 성능 평가 모델 개발 2건 • 개발된 모델 이용 미생물제제 평가 40건 				
내용		<ul style="list-style-type: none"> • 국내외 유통 미생물제제 현황 조사 및 확보 • 미생물제제 효능평가 및 우수제품 선발 • 작물의 생육촉진 효능 검증 모델 개발 • 작물의 식물병 억제 효과 검증 모델 개발 • 양돈용 미생물제제 성능 평가 모델 개발 • 양계용 미생물제제 성능 평가 모델 개발 • 성능 평가 모델 확보 및 매뉴얼 작성 					
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> • 국내외 유통 미생물제제 현황 조사 및 확보 • 작물용 미생물제품 성능 평가 30건 <ul style="list-style-type: none"> - 배추, 고추, 토마토 적용 생육촉진 미생물제제 20건에 대한 품질 평가 및 효능평가 (<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>) - 배추, 고추, 토마토 적용 식물병 억제 미생물제제 10건에 대한 품질 평가 및 효능평가 (<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>) • 축산용 미생물제제 성능 평가 30건 - 가축용 미생물제제 30건 품질평가 및 효능 평가(<i>in vitro</i>) <ul style="list-style-type: none"> - 양돈용 미생물제제 5건 사양실험 <i>in vivo</i> 효능 평가 - 양돈용 미생물제제 2건 현장 실증 <i>in vivo</i> 효능 평가 - 양계용 미생물제제 15건 사양실험 <i>in vivo</i> 효능 평가 • 작물의 생육촉진 효능 검증 모델 개발 • 작물의 식물병 억제 효과 검증 모델 개발 • 축산용 미생물제제 성능 평가 모델 개발 • 농축산용 미생물제제 성능 평가 기준안 제시 및 매뉴얼 작성 						
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> • 성능 기반의 미생물 제품 유통 및 보급에 활용 • 친환경 미생물 소재 산업의 글로벌 경쟁력 확보 및 생물자원 기반기술 향상 도모 • 미생물제제 사용으로 안전한 먹거리 및 환경 제공을 통한 국민의 삶의 질 향상 						

연구개발성과의 비공개여부 및 사유	-											
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
	5	2	-	-	-	-	-	생명 정보	생물 자원		-	정보
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	
국문핵심어 (5개 이내)	농축산용 미생물제품		작물		축산		효능평가		품질평가			
영문핵심어 (5개 이내)	Agricultural Microbial products		Plant		Livestock		Efficacy test		Quality control			

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요.....	5
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용.....	6
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도.....	8
4. 목표 미달 시 원인 분석.....	119
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도.....	119
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획.....	119
[별첨] 미생물제제 인지도 조사 분석 결과.....	129

1. 연구개발과제의 개요

○ 본 연구에서는 농축산용 미생물 제품 성능 조사 표준 모델 개발을 위해 6가지의 연구방향으로 수행하였음. 1) 국내외 유통 미생물제제의 유통 현황 조사, 2) 국내외 유통 우수 미생물제제 선별, 3) 미생물제제의 작물 생육촉진 기준 능력치 조사, 4) 미생물제제의 병해 저감, 방제효과 및 기준 마련, 5) 미생물제제의 가축 생산성 증진, 면역력 향상, 약취 저감 효과 조사 및 기준 마련, 그리고 6) 미생물제제 품질 평가 기준 마련하고 개발된 제품의 보급 및 활용을 위해 매뉴얼 작업 등 임



<농축산용 미생물 제품 성능 조사 표준 모델 개발과제 개요>

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

년차	세부목표	수행내용	수행결과
1차년도 (2021년)	국내외 유통 미생물제제 현황 조사 및 확보	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물비료, 미생물농약, 사료첨가용 미생물제제의 유통 현황 조사 • 미생물제제의 용도, 사용량, 등록 균주 및 생균수 등 특성 조사 • 국내외 유통 중인 미생물제제 구매 • 미생물제제 사용에 대한 수요자/소비자 설문 조사 	<ul style="list-style-type: none"> • 정보공개 포털, 나라장터, 농촌진흥청 농약 안전정보시스템, 유기농업자재 공시현황을 통해 조사완료 • 미생물비료 등록업체는 133개, 제품은 209개로 조사됨 • 미생물농약 등록업체는 8개, 제품은 18개로 조사됨 • 작물보호제 등록업체는 37개, 제품은 71개로 조사됨 • 사료첨가용 미생물제제 등록업체는 174개, 제품은 421개로 조사됨
	미생물제제 효능평가 및 우수제품 선정	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물비료, 미생물농약, 사료첨가용 미생물제제의 <i>in vitro</i> 효능 평가 항목 설정 및 구축 • 유통 중인 미생물제제 효능 평가 및 작물/가축 적용 실험 후보군 선정 	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물비료, 미생물농약, 작물보호제, 사료첨가제의 생균수와 우점균을 조사하여 등록사항과 일치여부를 조사함 • 미생물비료의 효능검증 모델을 확보하기 위해, 질소고정능, 인산가용화능, IAA 생성능을 평가함 • 미생물농약과 작물보호제의 대상 병원균에 대한 항균능을 평가함 • 사료첨가제의 장내생존능을 평가하기 위해 내산성, 내담즙성, 장세포 부착능을 수행함 • 항균능을 수행하여 기능성 평가를 진행함 • 항생제내성, 곰팡이 독소, 유해미생물 실험을 통해 안전성을 평가하였음
	작물의 생육 촉진 효능 검증 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물비료의 대상작물 효능 평가 항목 설정 및 구축 • 선정된 대상작물의 <i>in vivo</i> 효능 평가 	<ul style="list-style-type: none"> • 배추, 고추, 토마토를 대상작물로 선정하였음 • 미생물비료를 사용방법에 따라 관주처리, 엽면시비로 적용하여 작물의 상부길이, 상부생중량, 상부건중량, 엽장, 엽폭, 엽병장, 엽록체 함량등을 조사함 • 토양의 pH, K⁺, Mg²⁺ 성분 변화를 조사하여 미생물비료의 기능을 평가함
	작물 병해 억제 효과 검증 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물농약의 대상작물 효능 평가 항목 설정 및 구축 • 선정된 대상작물의 <i>in vivo</i> 효능 평가 	<ul style="list-style-type: none"> • 배추, 고추, 토마토 대상 병원균에 대한 항균능을 평가함
	양돈용 미생물제제 성능 평가 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물제품에 대한 3원 교잡 이유자돈, 6주간 사양 평가 • 미생물 처리구, 대조구, 항생제 처리구 설정 • 생산성, 혈액, 면역 증진 효과, 퇴비 부숙도 및 악취 물질 변이 분석 실시 	<ul style="list-style-type: none"> • 160두의 이유자돈에 사료첨가제 2종을 0.1%로 추가 급여하여 미생물 사료첨가제의 기능을 수행함 • 증체량, 사료섭취량, 사료효율 등의 생산성을 조사함 • WBCs (lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil), RBCs(Hb, Hct) IL-1β, IL-6, TNF-α등의 혈액성상을 조사하여 면역개선능을 평가함 • 분 내 이산화탄소, 암모니아, 메탄탄, 황화수소, 아세트산 등의 농도를 측정하여 악취물질 농도 변이를 측정함 • 돈분의 부숙도를 측정함
	양계용 미생물제제 성능 평가 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 초생추부터 출하때까지, 약 35일간 육계 사양실험 • 미생물 처리구, 대조구, 항생제 처리구 설정 • 생산성, 소화 장관 특성, 혈액, 면역 증진 효과, 육질 개선, 경골 및 악취 물질 변이 분석 실시 	<ul style="list-style-type: none"> • 540수의 육용계 Ross에 0.2%의 미생물 사료첨가제를 급여하여 미생물제제의 성능을 평가함 • 증체량, 사료섭취량, 사료효율, 소화장관의 길이 및 용모 지표, 장기무게 및 부위별 육량등을 조사하여 생산성을 평가함 • 혈액의 생화학지표를 평가하여 면역개선능을 평가함

			<ul style="list-style-type: none"> • 육질평가를 수행함 • 장 내 미생물 균총 조성 및 균주를 동정하여 미생물제제 급여 후 변이를 평가함
2차년도 (2022년)	미생물제제 효능평가 및 우수제품 선정	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물비료, 미생물농약, 사료첨가용 미생물제제의 <i>in vitro</i> 효능 평가 항목 설정 및 구축 • 유통 중인 미생물제제 효능 평가 및 작물/가축 적용 실험 후보군 선정 	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물비료, 미생물농약, 작물보호제, 사료첨가제의 생균수와 우점균을 조사하여 등록사항과 일치여부를 조사함 • 미생물비료의 효능검증 모델을 확보하기 위해, 질소고정능, 인산가용화능, IAA 생성능을 평가함 • 미생물농약과 작물보호제의 대상 병원균에 대한 항균능을 평가함 • 사료첨가제의 장내생존능을 평가하기 위해 내산성, 내담즙성, 장세포 부착능을 수행함 • 항균능을 수행하여 기능성 평가를 진행함 • 항생제내성, 곰팡이 독소, 유해미생물 실험을 통해 안전성을 평가하였음
	작물의 생육 촉진 효능 검증 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물비료의 대상작물 효능 평가 항목 설정 및 구축 • 선정된 대상작물의 <i>in vivo</i> 효능 평가 	<ul style="list-style-type: none"> • 배추, 고추, 토마토를 대상작물로 선정하였음 • 미생물비료를 자체적으로 개발한 시험방법으로 처리 후 작물의 상부길이, 상부생중량, 상부건중량, 엽장, 엽폭, 엽병장, 엽록체 함량등을 조사함 • 토양의 pH, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, P_2O_5성분 변화를 조사하여 미생물비료의 기능을 평가함
	작물 병해 억제 효과 검증 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물농약의 대상작물 효능 평가 항목 설정 및 구축 • 선정된 대상작물의 <i>in vivo</i> 효능 평가 	<ul style="list-style-type: none"> • 배추, 고추, 토마토 대상 병원균에 대한 항균능을 평가함
	양돈용 미생물제제 성능 평가 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물제제에 대한 3원 교잡 육성돈, 10주간 사양 평가 • 미생물 처리구, 대조구, 항생제 처리구 설정 • 생산성, 혈액, 면역 증진 효과, 퇴비 부숙도 및 악취 물질 변이 분석 실시 	<ul style="list-style-type: none"> • 200두의 육성돈에 사료첨가제 3종을 0.5%로 추가 급여하여 미생물 사료첨가제의 기능을 수행함 • 중체량, 사료섭취량, 사료효율 등의 생산성을 조사함 • WBCs (lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil), RBCs(Hb, Hct) IL-1β, IL-6, TNF-α등의 혈액성상을 조사하여 면역개선능을 평가함 • 분 내 이산화탄소, 암모니아, 메탄탄, 황화수소, 아세트산 등의 농도를 측정하여 악취물질 농도 변이를 측정함 • 돈분의 부숙도를 측정함
	양계용 미생물제제 성능 평가 모델 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 초생추부터 출하때까지, 약 35일간 육계 사양실험 • 미생물 처리구, 대조구, 항생제 처리구 설정 • 생산성, 소화 장관 특성, 혈액, 면역 증진 효과, 육질 개선, 경골 및 악취 물질 변이 분석 실시 	<ul style="list-style-type: none"> • 900수의 육용계 Arbor Acres 1일령에 0.5%의 미생물 사료첨가제를 급여하여 미생물제제의 성능을 평가함 • 중체량, 사료섭취량, 사료효율, 소화장관의 길이 및 웅모 지표, 장기무게 및 부위별 육량 등을 조사하여 생산성을 평가함 • 혈액의 생화학지표를 평가하여 면역개선능을 평가함 • 육질평가를 수행함 • 장 내 미생물 균총 조성 및 균주를 동정하여 미생물제제 급여 후 변이를 평가함
	기준(안) 마련 및 매뉴얼 작성	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물 비료/ 미생물 농약/ 미생물 사료의 평가기준(안) 제시 및 매뉴얼 제작 	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물 비료/ 미생물 농약/ 미생물 사료의 품질 평가 및 효능평가(<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>)의 평가 지표 및 기준(안) 제시 • 미생물 비료/ 미생물 농약/ 미생물 사료의 품질 평가 및 효능평가(<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>)의 평가 지표 및 기준(안)에 대한 매뉴얼 작성

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

(1-1) 국내외 유통 미생물제제 현황 조사 및 확보

○ 미생물 비료, 미생물 농약, 사료첨가용 미생물제제의 유통 현황 조사

- ‘정보공개포털’, ‘나라장터’, ‘농촌진흥청 농약안전정보시스템’ 및 유기농업자재 공시현황’을 통해 조사하였음 (표 1)

표 1. 미생물 비료, 미생물 농약, 사료첨가용 미생물제제의 유통 현황

(단위 : 개)

미생물 비료		유기농업자재 (작물보호제)		미생물 농약		사료첨가용 미생물제제	
업체수	제품수	업체수	제품수	업체수	제품수	업체수	제품수
133	209	37	71	8	18	174	421

○ 미생물 비료 업체현황

- 비료 생산업의 등록은 특별자치도, 시·군·구에서 관리를 하나 유기농업자재 외의 제품은 관리가 되고 있지 않았음. ‘정보공개포털’을 통해 전국 생산업체 정보를 얻었으며, 유선상으로 제품을 조사하였음 (표 2)
- ‘정보공개포털’을 통해 각 시·군·구로부터 업체 명, 주소, 연락처를 제공 받았으나 일부 지자체 (충남, 전남, 경북)에서는 정보를 제공받을 수 없었음
- 비료생산 등록업체로 농업기술센터가 등록되어져 있었으나 대부분 배지를 구매하여 배양 후 농가에 배양액을 보급하는 형식으로 미생물 비료 생산업체로 보기 어려웠음
- 288개의 업체 정보를 제공받았으며, 80여개(농업기술센터 제외)의 기업을 제외한 나머지 기업은 미생물 비료를 생산하고 있지 않았음

표 2. 미생물 비료 업체 현황

No.	업체 명	소재지	연락처
1	주식회사 웰빙엘에스	██████████	██████████
2	농업회사법인 유동에프앤비(주)	██████████	██████████
3	바이오크롭스	██████████	██████████
4	아우젠코리아	██████████	██████████
5	(주)누림	██████████	██████████
6	(주)에코비즈넷	██████████	██████████
7	화천농업협동조합	██████████	██████████
8	(주)셀바이오텍	██████████	██████████
9	(주)서울이엠연구소	██████████	██████████
10	(주)베니슨 인터내셔널	██████████	█
11	농업회사법인 투엠바이오주식회사	██████████	██████████
12	고삼농협	██████████	██████████
13	(주)허브킹	██████████	██████████
14	농업회사법인 삼원농산주식회사	██████████	██████████
15	(주)진산티앤씨	██████████	██████████

16	농업회사법인 (주)진산	[REDACTED]	[REDACTED]
17	(주)넬바이오텍	[REDACTED]	[REDACTED]
18	(주)한국친환경	[REDACTED]	[REDACTED]
19	(주)라이스텍	[REDACTED]	[REDACTED]
20	(주)내츄럴이앤지	[REDACTED]	[REDACTED]
21	(주)빅바이오젠	[REDACTED]	[REDACTED]
22	바이인터내셔널 주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
23	(주)생명탄	[REDACTED]	[REDACTED]
24	(주)해강바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
25	(주)에쓰엠아이	[REDACTED]	[REDACTED]
26	(주)한국운모개발	[REDACTED]	[REDACTED]
27	(주)우경바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
28	(주)백암바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
29	농업회사(주) 아그로비즈	[REDACTED]	[REDACTED]
30	(주)경농	[REDACTED]	[REDACTED]
31	글로벌아그로(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
32	(주)그린바이오텍	[REDACTED]	[REDACTED]
33	농업회사법인 투엠바이오(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
34	(주)도프	[REDACTED]	[REDACTED]
35	(주)비비코리아	[REDACTED]	[REDACTED]
36	흥농아그로	[REDACTED]	[REDACTED]
37	우림바이오(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
38	우진비앤지(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
39	고려바이오(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
40	(주)빅썸바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
41	코리아에코영농법인	[REDACTED]	[REDACTED]
42	(주)네스코	[REDACTED]	[REDACTED]
43	주식회사 지엘바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
44	(주)남보	[REDACTED]	[REDACTED]
45	SJ인터내셔널	[REDACTED]	[REDACTED]
46	(주)코린코리아	[REDACTED]	[REDACTED]
47	(주)건일	[REDACTED]	[REDACTED]
48	바이프롬주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
49	(주)한텍	[REDACTED]	[REDACTED]
50	(주)에코글로벌코리아	[REDACTED]	[REDACTED]
51	(주)제일그린산업	[REDACTED]	[REDACTED]
52	(주)한국바이오케미칼	[REDACTED]	[REDACTED]
54	용추농업회사법인(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
55	흥원바이오아그로	[REDACTED]	[REDACTED]
56	미래바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
57	코리아히록스	[REDACTED]	[REDACTED]
58	(주)대유	[REDACTED]	[REDACTED]
59	성주참외혁신지원단	[REDACTED]	[REDACTED]
60	(주)미산	[REDACTED]	[REDACTED]

61	마루팜		
62	피지피알(PGPR)		
63	(주)엠제이원		
64	(주)비왕산업		
65	신광바이오		
66	(주)에코원		
67	단지LED		
68	(주)씨엠씨코리아		
69	제노바이오		
70	효성오앤비(주)		
71	(주)비아이지		
72	대저농협유통센터		
73	해성씨드플러스(주) 농업회사법인		
74	(주)조비		
75	(주)농비		
76	케이지케이미칼(주)		
77	이엠생활환경(주)		■
78	(재)전남생물산업진흥원 친환경농생명 연구센터		
79	(주)캠포트		
80	농업회사법인(주)엘바이오텍		
81	(주)엔텍		■
82	농업회사법인 (주)와이앤바이오		
83	(주)팜스코리아		■
84	우림바이오(주)		■
85	(주)현농		
86	농업회사법인 (주)나비골팜		
87	(주)한삶바이오텍		
88	(주)그린케어		
89	장수군농업기술센터		
90	한국스테비아 주식회사		
91	(주)마이크로자임		
92	주식회사 더블유에스		
93	(주)한국융복합바이오공학센터		
94	바이오메카		
95	(주)엠솔		
96	지앤엠주식회사		
97	(주)에버미라클		
98	(주)지에스엘바이오		
99	고원(주)		
100	(유)가이아바이오		■
101	농업회사법인 (주)도랑		■
102	한국유기농업개발(주)		■
103	농업회사법인 (주)신근바이오		■
104	농업회사법인 흙살림(주)		

105	(주)신성미네랄	████████████████████	████████
106	(주)씨앤엘케미컬	████████████████████	████████
107	MVP애그텍	████████████████████	████████
108	제토산업	████████████████████	████████
109	(주)엔비아그로	████████████████████	████████
110	(주)대덕바이오	████████████████████	████████
111	(주)아미텍	████████████████████	█
112	이엠(E.M)	████████████████████	████████
113	케이비티	████████████████████	████████
114	(유)아스틴	████████████████████	█
115	뉴그린웰(주)	████████████████████	█
116	팔마이생물(주)	████████████████████	█
117	(주)산수원	████████████████████	█
118	(주)미르존물약연구소	████████████████████	████████
119	투엠바이아연구소	████████████████████	████████
120	(주)유니텍바이오산업	████████████████████	████████
121	조이바이오(주) 농업회사법인	████████████████████	████████
122	FM애그텍	████████████████████	████████
123	(주)에프앤비 네이처	████████████████████	████████
124	팜프랜드	████████████████████	████████
125	엔비오가드	████████████████████	████████
126	썩두코리아	████████████████████	████████
127	(주)드림아그로	████████████████████	████████
128	한국만다효소(주)	████████████████████	████████
129	에이엠팜(주)	████████████████████	████████
130	(주)푸르네	████████████████████	████████
131	(주)건농	████████████████████	████████
132	(주)운석	████████████████████	████████
133	(주)씨드바이오	████████████████████	████████

○ 작물보호제 (유기농업자재)

- 유기농업자재 공시현황'을 통해 관리되고 있었으며, 이를 토대로 조사하였음 (표 3)

표 3. 작물보호제(유기농업자재) 업체 현황

No.	업체 명	소재지	연락처
1	(재)전남생물산업진흥원 친환경농생명연구센터	████████████████████	████████
2	(주)젠153바이오텍	████████████████████	████████
3	FM애그텍	████████████████████	████████
4	SJ인터내셔널	████████████████████	████████
5	고려바이오(주)	████████████████████	████████
6	네이처런스(주)	████████████████████	████████
7	농업회사법인 성주참외혁신지원단(주)	████████████████████	████████
8	농업회사법인 엠바이오테크 주식회사	████████████████████	█

9	농업회사법인 투엠바이오(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
10	농업회사법인 흙살림(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
11	농업회사법인(주)자연과미래	[REDACTED]	[REDACTED]
12	순천시미생물센터	[REDACTED]	[REDACTED]
13	우진비앤지(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
14	위드크롭스 주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
15	(주)고려바이오연구소	[REDACTED]	[REDACTED]
16	(주)남보	[REDACTED]	[REDACTED]
17	(주)농예가	[REDACTED]	[REDACTED]
18	(주)농협케미컬	[REDACTED]	[REDACTED]
19	(주)누림	[REDACTED]	[REDACTED]
20	(주)대덕바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
21	(주)대유	[REDACTED]	[REDACTED]
22	(주)비아이지	[REDACTED]	[REDACTED]
23	(주)빅섬바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
24	(주)씨엠씨코리아	[REDACTED]	[REDACTED]
25	(주)에드바이오텍	[REDACTED]	[REDACTED]
26	(주)에코비즈넷	[REDACTED]	[REDACTED]
27	(주)엔비아그로	[REDACTED]	[REDACTED]
28	(주)유피엘리미티드코리아	[REDACTED]	[REDACTED]
29	(주)이지	[REDACTED]	[REDACTED]
30	(주)제일그린산업	[REDACTED]	[REDACTED]
31	(주)팜한농	[REDACTED]	[REDACTED]
32	(주)푸르네	[REDACTED]	[REDACTED]
33	(주)한국바이오케미칼	[REDACTED]	[REDACTED]
34	(주)현농	[REDACTED]	[REDACTED]
35	코퍼트(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
36	팜프랜드	[REDACTED]	[REDACTED]
37	한국삼공(주)	[REDACTED]	[REDACTED]

○ 미생물 농약 업체현황

- 농약은 ‘농촌진흥청 농약안전정보시스템’ 및 유기농업자재 공시현황’을 통해 관리되고 있었으며, 이를 토대로 조사하였음 (표 4)

표 4. 미생물 농약 업체 현황

No.	업체 명	소재지	연락처
1	(주)그린바이오텍	[REDACTED]	[REDACTED]
2	(주)한국바이오케미칼	[REDACTED]	[REDACTED]
3	(주)그린바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
4	바이엘크롭사이언스(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
5	고려바이오(주)	[REDACTED]	[REDACTED]

6	한국삼공(주)	████████████████████	██████
7	(주)팜한농	████████████████	██████
8	(주)제일그린산업	████████████████████	██████

○ 사료첨가용 미생물제제(미생물 사료) 업체현황

- 사료첨가용 미생물제제는 ‘나라장터종합쇼핑몰’ 및 ‘정보공개포털’을 통해 조사하였음
- 미생물 사료 생산업체로 농업기술센터가 등록되어 있었으며, 미생물 비료와 마찬가지로 배지를 구입 후 배양하여 농가에 보급하는 형식이었음 (표 5)

표 5. 사료첨가용 미생물제제(미생물 사료) 업체 현황

No.	업체 명	소재지	연락처
1	씨드바이오	████████████████████	██████
2	(주)가람	████████████████████	██████
3	(주)건영이앤씨	████████████████████	██████
4	경북친환경한돈	████████████████████	██████
5	군산바이오	████████████████████	██████
6	농업회사법인 유한회사 그린피드	████████████████████	██████
7	농업회사법인 유한회사 금강티에스	████████████████████	██████
8	농업회사법인 주식회사 나우수의그룹	████████████████████	██████
9	(유) 남해바이오	████████████████████	██████
10	주식회사 널바이오텍	████████████████████	██████
11	논산계룡축산협동조합	████████████████████	██████
12	농업회사법인(합)포발	████████████████████	██████
13	농우미생물	████████████████████	██████
14	(주)누리에코	████████████████████	██████
15	주식회사 누림	████████████████████	██████
16	유한회사 뉴에코	████████████████████	██████
17	뉴엘림락토	████████████████████	██████
18	다우바이오	████████████████████	██████
19	(주)다원케미칼	████████████████████	██████
20	당진자연세계영농조합법인	████████████████████	██████
21	당진축산업협동조합	████████████████████	██████
22	대덕바이오	████████████████████	██████
23	대영바이오	████████████████████	██████
24	대한팜 주식회사	████████████████████	██████
25	주식회사 대호	████████████████████	██████
26	주식회사 더블유에스	████████████████████	██████
27	(주)동명양행	████████████████████	██████
28	동원엔에프	████████████████████	██████

29	두루텍		
30	두지프로바이오틱스		
31	(주)마이웰에프앤에프		
32	(주)마이크로솔루션		
33	주식회사 마이크로자임		
34	메리스바이오주식회사		
35	주식회사 민우		
36	농업회사법인 바라후(주)		
37	주식회사 바이오버스		
38	주식회사 바이오벳		
39	바이오시스템엔지(주)		
40	바이오앤드림코리아		
41	바이오젠		
42	주식회사 바이오헬릭스		
43	(주)케이씨애니헬		
44	(주)벨벳케어		
45	주식회사부경팜		
46	(주)비비코리아		
47	비와이컴퍼니		
48	(주)비타바이오		
49	비티리더		
50	(주)빅바이오젠		
51	(주)빅솔에이에스		
52	농업회사법인주식회사삼광		
53	농업회사법인주식회사삼현생명과학		
54	주식회사 삼화그린텍		
55	(주)서광그린-엠		
56	유한회사 서진		
57	유한회사 서진바이오		
58	선 바이오(주)		
59	주식회사 선한바이오		
60	주식회사성원		
61	(주) 소마		
62	송화바이오		
63	주식회사 슈퍼바이오		
64	주식회사 시너빅		
65	신라축산약품		
66	주식회사 신한바이오컴		

67	주식회사 씨드바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
68	주식회사 씨아이이에프	[REDACTED]	[REDACTED]
69	(주)씨티씨바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
70	애닉스주식회사 농업회사법인	[REDACTED]	[REDACTED]
71	(주)애드 바이오텍	[REDACTED]	[REDACTED]
72	(주)에버미라클	[REDACTED]	[REDACTED]
73	에스씨아이	[REDACTED]	[REDACTED]
74	주식회사 에스에이치바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
75	에스엠비	[REDACTED]	[REDACTED]
76	농업회사법인 (주)에스피	[REDACTED]	[REDACTED]
77	주식회사 에코비즈넷	[REDACTED]	[REDACTED]
78	농업회사법인 유한회사 에코힐	[REDACTED]	[REDACTED]
79	농업회사법인 주식회사 엘바이오텍	[REDACTED]	[REDACTED]
80	주식회사 엠에스생명과학	[REDACTED]	[REDACTED]
81	(주)엠에이피	[REDACTED]	[REDACTED]
82	메리스바이오주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
83	엠제이시스템	[REDACTED]	[REDACTED]
84	예랑그린텍	[REDACTED]	[REDACTED]
85	옥당바이오텍(주)	[REDACTED]	[REDACTED]
86	용바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
87	우리들	[REDACTED]	[REDACTED]
88	우림바이오 주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
89	(주)우성양행	[REDACTED]	[REDACTED]
90	우진비앤지 주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
91	(주)운석	[REDACTED]	[REDACTED]
92	주식회사원발효산업	[REDACTED]	[REDACTED]
93	(주)원환경	[REDACTED]	[REDACTED]
94	(주)유니바이오테크	[REDACTED]	[REDACTED]
95	유바이오텍	[REDACTED]	[REDACTED]
96	유진바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
97	주식회사 은진바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
98	주식회사 이글벳	[REDACTED]	[REDACTED]
99	주식회사 이노바텍	[REDACTED]	[REDACTED]
100	주식회사이비에프	[REDACTED]	[REDACTED]
101	주식회사 이엘티플러스 농업회사법인	[REDACTED]	[REDACTED]
102	이지바이오텍	[REDACTED]	[REDACTED]
103	농업회사법인전남한돈친환경주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
104	주식회사 정농바이오	[REDACTED]	[REDACTED]

105	제노바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
106	제노아그로주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
107	제일농산친환경영농조합법인	[REDACTED]	[REDACTED]
108	(주)제주제이엠에스	[REDACTED]	[REDACTED]
109	지앤엠 주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
110	지에스바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
111	(주)지엘바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
112	지오그린텍 주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
113	진우약품 주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
114	주식회사 참전유공자장애인회	[REDACTED]	[REDACTED]
115	주식회사 첨단환경	[REDACTED]	[REDACTED]
116	청미케미칼	[REDACTED]	[REDACTED]
117	청풍바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
118	축산냄새연구소	[REDACTED]	[REDACTED]
119	농업회사법인(유)카야시스템	[REDACTED]	[REDACTED]
120	(주)케이시	[REDACTED]	[REDACTED]
121	주식회사 케이시에프엔시	[REDACTED]	[REDACTED]
122	(주)케이씨애니헬	[REDACTED]	[REDACTED]
123	(주)캠포트	[REDACTED]	[REDACTED]
124	코나 (CONA)	[REDACTED]	[REDACTED]
125	코리아히록스	[REDACTED]	[REDACTED]
126	주식회사 코어바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
127	티에스바이오	[REDACTED]	[REDACTED]
128	주식회사 셀텍	[REDACTED]	[REDACTED]
129	팜텍	[REDACTED]	[REDACTED]
130	주식회사 필자임	[REDACTED]	[REDACTED]
131	(주)평강비아이엠	[REDACTED]	[REDACTED]
132	(주)푸르네	[REDACTED]	[REDACTED]
133	(주) 필자임	[REDACTED]	[REDACTED]
134	주식회사 한국바이오닉스	[REDACTED]	[REDACTED]
135	(주)한국바이오케미칼	[REDACTED]	[REDACTED]
136	한국이엠산업 주식회사	[REDACTED]	[REDACTED]
137	(주)한국환경기술	[REDACTED]	[REDACTED]
138	(주)한민미생물연구소	[REDACTED]	[REDACTED]
139	한서기연	[REDACTED]	[REDACTED]
140	한우공감	[REDACTED]	[REDACTED]
141	한풍산업	[REDACTED]	[REDACTED]
142	함평축산업협동조합	[REDACTED]	[REDACTED]

143	현농	████████████████████	████████
144	대인시스템	████████████████████	████████
145	(주)삼양애니팜	████████████████████	████████
146	효진팜텍	████████████████████	████████
147	흙사랑 영농조합법인	████████████████████	████████
148	(주) 힐링바이오	████████████████████	████████
149	한국섬뽕(주)	████████████████████	████████
150	바이오텐	████████████████████	████████
151	(주)엠솔	████████████████████	████████
152	(주)세농	████████████████████	████████
153	(주)푸른들이엠사료	████████████████████	████████
154	한국삼협화성(주)	████████████████████	████████
155	우일바이오F&M	████████████████████	████████
156	엔비오가드	████████████████████	████████
157	힐링 파머스 주식회사	████████████████████	████████
158	(주)엠에스토피아	████████████████████	████████
159	(주)건농	████████████████████	████████
160	창조바이오텍	████████████████████	████████
161	지티글로벌	████████████████████	████████
162	고원(주)	████████████████████	████████
163	(사)일하는사람들	████████████████████	████████
164	진바이오텍	████████████████████	████████
165	비오지노키	████████████████████	████████
166	크린바이오	████████████████████	████████
167	(주)피드업	████████████████████	████████
168	(주)이지바이오	████████████████████	████████
169	(주)솔튼바이오캡	████████████████████	████████
170	(주)옴티팜바이오	████████████████████	████████
171	(주)픽스멜연구소	████████████████████	████████
172	장바이오텍(주)	████████████████████	████████
173	(주)한동	████████████████████	████████
174	주식회사 웰빙엘에스	████████████████████	████████

○ 미생물제제 제품 등록 규정

표 6. 국내 미생물제제 제품 등록 규정

분류	천연식물보호제	유기농업자재		부산물 비료(토양미생물제제)	보조사료(미생물제)
관련 법령	농약관리법*	국립농산물품질관리원고시**		비료관리법***	사료관리법****
필수사항	-	-		고시균주, 10 ⁶ CFU/g 이상 (비료 공정규격설정 및 지정 별표 3)	고시균주, 10 ⁶ CFU/g 이상 (사료 등의 기준 및 규격 별표 2)
등록 요구사항	<ul style="list-style-type: none"> - 이화학분석 성적서 (미생물) - 약효·약해시험 성적서 - 독성시험 성적서 - 잔류성시험 성적서 (생물 농약 생략 가능) - 환경영향 성적서 - 요약서 	<ul style="list-style-type: none"> 토양개량 및 작물생육용 	<ul style="list-style-type: none"> 병해충관리용 	<ul style="list-style-type: none"> - 등록신청서 - 제조공정·제조원료 및 투입비율 - 보증성분(고시균주)·유해성분 및 그 밖의 규격 성적서 - 재배시험 성적서 (공정규격 설정 비료의 경우) 	<ul style="list-style-type: none"> - 등록신청서 - 주성분 분석(고시균주)
		<ul style="list-style-type: none"> - 주성분 분석 (미생물) - 유해성분 분석 - 비해시험 - 비효시험 (기능성 표시) 	<ul style="list-style-type: none"> - 주성분 분석 (미생물) - 유해성분 분석 - 약효·약해시험 - 독성시험 - 잔류시험 		
등록방법	<ul style="list-style-type: none"> - 제품 등록 신규 (9개월) - 제품 등록 변경 (3개월) 	- 유기농업자재 심의		<ul style="list-style-type: none"> - 비료생산업등록 (15일) - 비료생산업등록 변경신고 (제품 추가 시) 	<ul style="list-style-type: none"> - 사료성분등록 (3일) (제품등록 및 신규 추가 시)
등록기관	농촌진흥청	국립농산물품질관리원		각 지자체	각 지자체
사후관리	<ul style="list-style-type: none"> - 농촌진흥청 (유통농약 수거) 	<ul style="list-style-type: none"> - 국립농산물품질관리원 (조사반 편성) 		<ul style="list-style-type: none"> 별도로 없음 (제품 생산 시) 	<ul style="list-style-type: none"> - 자가품질검사, 연 2회 (사료검정 및 시험검사기관)

*농약관리법 (제8조제1항, 제9조제1항), 농약관리법 시행령 (제5조), 농약관리법 시행규칙 (제3조제1항, 제12조제1항, 제27조제1항), 농약 및 원제의 등록기준 (제3조제1항) 및 별표 9, 10, 11, 12, 13, 14

** 유기농업자재 공시기준 (제5조, 제6조, 제9조, 제10조), 유기농업자재 및 공시사업자에 대한 사후관리 요령 (제5조1항, 제8조제1항)

*** 비료관리법 (제11조제1항), 비료관리법 시행령 (제11조제1항), 비료관리법 시행규칙 (제7조제1항), 비료 공정규격설정 및 지정(제4조제1항, 제6조제1항) 및 별표 3

**** 사료관리법 (제8조제1항, 제12조제1항), 사료관리법 시행규칙 (제12조제1항, 제21조1항), 사료 등의 기준 및 규격 (제5조, 제6조의2, 제9조제1항, 제11조1항) 및 별표 2

(1-2) 미생물제제 효과 분석 및 기준안 마련 개요

- 통상적으로 미생물제제는 사용 대상 및 용도에 따라 작물용 미생물제제와 사료첨가용 미생물제제로 구분하고 그 중에서 작물용 미생물제제는 미생물 비료와 미생물 농약으로 나눌 수 있음. 특히 미생물제제는 표 1과 같이 법령상 총 4개의 제품군으로 분류 되는데, 본 과제에서는 이를 작물 생육촉진용 미생물제제(이하 미생물 비료)와 작물 병해 억제용 미생물제제(이하 미생물 농약(유기농업자재 작물보호제 포함)), 사료첨가용 미생물제제(이하 미생물 사료)로 구분하여 표기하고 분석을 수행함
- 미생물제제의 효과 분석 및 기준치 마련을 위하여 미생물제제의 사용 용도에 따른 미생물 제품을 각각 선정하고 미생물 제품에 대한 품질 평가, 효능평가 (*in vitro*, *in vivo*) 등의 효과분석을 수행하여 미생물제제의 신뢰성 있는 표준 평가 기준안을 마련하고자 하였음



그림 1. 미생물제제 효과 분석 및 기준안 마련 모식도

(1-3) 작물용 미생물제제 효과분석 표준모델 수립

□ 미생물 비료

○ 미생물 비료 선정 및 특성

- 제품의 원활한 확보를 위해 유기농업자재에 등록되어 있는 제품으로 고려하였음
- 고추, 배추, 토마토에 적용 가능한 제품을 검토하여 평가대상 제품을 선정하였음
- 제품의 표기는 'Fertilized'의 약자인 'F'로 명명하였고, 1번부터 20번까지 제품의 순서를 나열하였음 (표 7)

표 7. 미생물 비료(유기농업자재; 토양개량 및 작물생육용) 선정 제품 및 특성

No.	제품명	등록군주	생균수	사용량	비고
1	F-1	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	150 ~ 300평당 5kg 사용	-
2	F-2	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Pichia deserticola</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	500 ~ 1000배 희석 후 엽면살포	-
3	F-3	<i>Bacillus mojavensis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	50 ~ 100kg 당 제품 1kg 사용	기능성 표기
4	F-4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	작물 정식 후 500배 희석 후 엽면살포	-
5	F-5	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	작물 정식 후 500배 ~ 1000배 희석 후 엽면살포	-
6	F-6	<i>Trichoderma harzianum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	제품 1개 250L로 희석 후 정식 전 뿌리 침지	-
7	F-7	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	작물 정식 후 1000배 희석 후 엽면살포	-
8	F-8	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	정식 시 500 ~ 1000배 희석 후 토양관주처리	-
9	F-9	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	300평당 4kg 사용	기능성 표기
10	F-10	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	작물 정식 후 1000배 희석 후 엽면살포	기능성 표기
11	F-11	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	500배 희석액을 7일 간격 관주	-
12	F-12	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	1000배 희석후 토양 관주 또는 500배 희석 후 엽면살포	-
13	F-13	<i>Trichoderma harzianum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	200~300평/ 1개 제품(200g) 뿌리침지, 주기적 관주처리, 경엽처리	기능성 표기
14	F-14	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	작물 정식 후 1000배 희석후 적정살포 및 관주	-
15	F-15	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	추비시 뿌리주변을 중심으로 표층시비	기능성 표기
16	F-16	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	500~600m ² 면적 당 제품 1~1.5kg 사용	-
17	F-17	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	1000배 희석하여 관주처리	-
18	F-18	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	200평당 1L로 희석 후 토양에 관주	-
19	F-19	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	300m ² 기준으로 제품 5~10kg을 토양에 혼합하여 사용	기능성 표기
20	F-20	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	1000배 희석 후 200평에 관주 시비	기능성 표기

○ 미생물 비료에 대한 품질 평가

- 미생물 비료에 대한 품질평가는 제품에서 미생물을 분리 후 총 균수 측정과 유전자분석을 통한 미생물 동정으로 진행함 (그림 2)

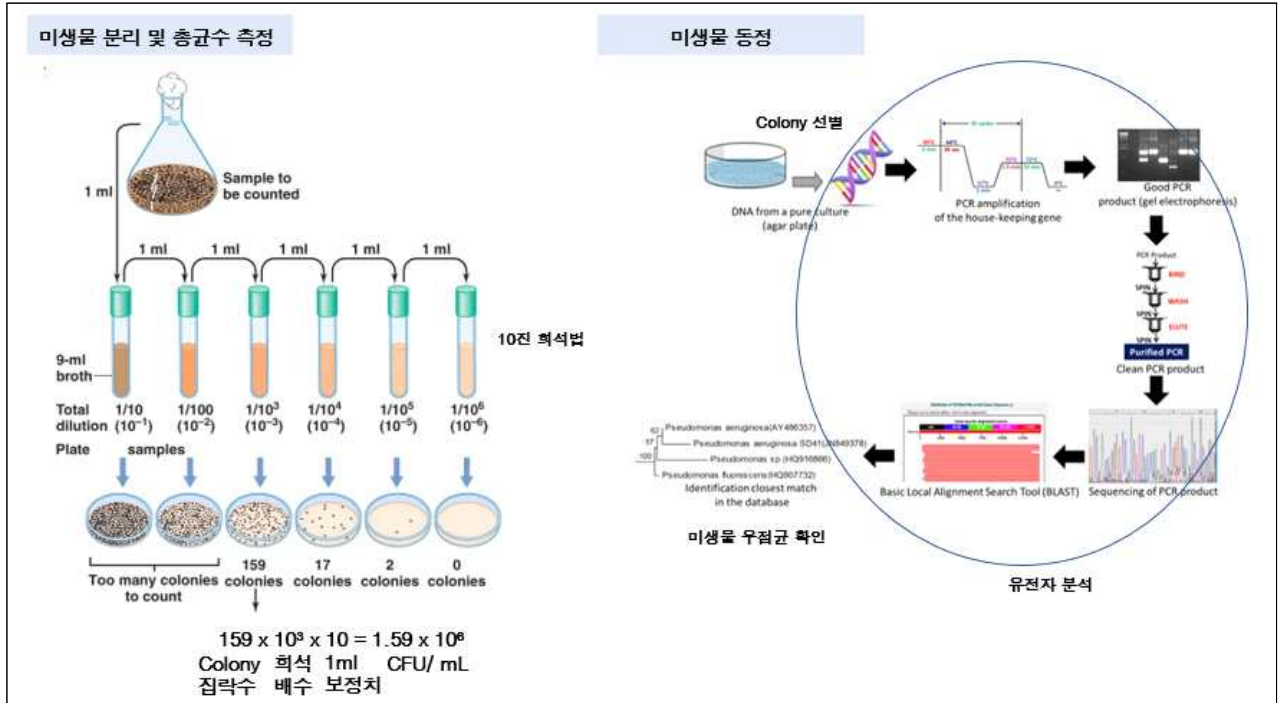


그림 2. 미생물 비료 품질평가 방법 그림 설명

▶ 총 균수 측정 및 미생물 동정

- 미생물 비료에 대해 성분등록 균주 및 총 균수 측정을 위해 등록성분별 미생물의 적정배지에 10진 희석법을 통해 제품을 도말하여 미생물을 분리하고 미생물별 적정온도에서 배양 후 총 균수를 측정하였음
- 미생물 동정은 분리한 미생물 colony를 무작위(random)로 선별 및 확보하여 세균의 경우 16S rRNA, 진균의 경우 ITS 유전자 부위의 primer를 사용하여 유전자 분석을 수행하였음
- 미생물 비료 제품 내에 우점하고 있는 미생물 우점균을 분석하였음

▶ 미생물 비료 품질 평가 결과

- 미생물 비료에 대해 총 균수 측정 및 성분등록 균주 확인을 위해 등록성분별 미생물에 대한 품질 평가를 수행한 결과 총 균수는 대부분의 제품이 등록사항과 유사하거나 높은 결과를 나타내었음. 분말 제품이 액상제제에 비해 총 균수가 낮은 결과를 보였는데 이는 분말 제품의 경우 미생물이 동결건조 되어 추가되기 때문에 액상제제에 비해 분해율이 낮은 것으로 해석됨
- 미생물 동정 측정결과 등록사항과 일치하는 미생물 함유 제품은 11개(F-1, F-2, F-6, F-10, F-13, F-15, F-16, F-17, F-18, F-19, F-20)였고, 표 7에 초록색으로 표기하였음
- 등록사항과 측정된 미생물정보가 다른 제품은 9개(F-3, F-4, F-5, F-7, F-8, F-9, F-11, F-12, F-14)였고, 제품 중 유해균이 검출된 제품도 있었음. 유해균이 검출된 제품은 표 7에 붉은색으로 표기하였음 (표 8)
- 미생물 비료제품의 품질 평가를 수행한 결과, 미생물 동정 결과가 등록사항과 일치하는 제품은 20개 중 11개였고 이는 지금까지 미생물 산업에 대한 신뢰도 하락의 원인으로 대두되었던 품질에 대한 문제점으로 볼 수 있음. 따라서 미생물제품의 꾸준한 품질 평가를 통해 철저한 관리 체계가 마련되어야 하며 안정적인 미생물 제품을 통한 미생물산업에 대한 신뢰도 회복이 필요함을 시사함

표 8. 미생물 비료 제품의 품질 평가 결과

No.	등록사항			측정 결과	
	상품명	균주	제품 형태	총 균수 측정 (cfu/g)	미생물 동정(우점균) 측정
1	F-1	<i>Bacillus subtilis</i> 10 ⁶	분말	8.1 x 10 ⁶	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
2	F-2	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Pichia deserticola</i> 10 ⁶ 이상	액상	1.3 x 10 ⁷	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (40%) <i>Lactobacillus harbinensis</i> (30%) <i>Lactobacillus casei</i> (20%) <i>Lactobacillus zeae</i> (10%)
				2.7 x 10 ⁴	<i>Pichia deserticola</i> (20%)
3	F-3	<i>Bacillus mojavensis</i> 10 ⁶ 이상	분말	4.6 x 10 ⁷	<i>Bacillus velezensis</i> (90%) <i>Bacillus subtilis</i> (10%)
4	F-4	<i>Lactobacillus plantarum</i> 10 ⁶ 이상	액상	1.1 x 10 ⁷	<i>Lactobacillus buchneri</i> (100%)
5	F-5	<i>Lactobacillus plantarum</i> 10 ⁶ 이상	액상	3.5 x 10 ⁷	<i>Lactobacillus buchneri</i> (80%) <i>Lactobacillus ethanolidurans</i> (20%)
6	F-6	<i>Trichoderma harzianum</i> 10 ⁶ 이상	분말	3.0 x 10 ⁷	<i>Trichoderma harzianum</i> (100%)
7	F-7	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> 10 ⁶ 이상	액상	3.6 x 10 ⁶	<i>Rhodopseudomonas faecalis</i> (90%)
8	F-8	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 10 ⁶	액상	5.5 x 10 ⁸	<i>Bacillus velezensis</i> (90%) <i>Bacillus nakamurai</i> (10%)
9	F-9	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	분말	4.7 x 10 ⁷	<i>Enterobacter</i> sp. (80%) <i>Candida tropicalis</i> (20%)
				1.8 x 10 ⁷	<i>Pediococcus acidilactici</i> (50%) <i>Lactobacillus pentosus</i> (30%) <i>Lactobacillus plantarum</i> (20%) <i>Bacillus subtilis</i> (30%) <i>Bacillus aerius</i> (30%) <i>Bacillus</i> sp. (30%) <i>Bacillus licheniformis</i> (10%) <i>Lactobacillus casei</i> (50%)
10	F-10	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bacillus subtilis</i> 10 ⁶ 이상	액상	1.3 x 10 ⁵	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (30%) <i>Lactobacillus harbinensis</i> (10%) <i>Lactobacillus buchneri</i> (10%) <i>Yokenella regensburgeri</i> (70%) <i>Phytobacter diazotrophicus</i> (30%)
				1.3 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
11	F-11	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	액상	1.3 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
12	F-12	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	액상	6.7 x 10 ⁵	<i>Trichoderma harzianum</i> (100%)
13	F-13	<i>Trichoderma harzianum</i>	분말	3.7 x 10 ⁷	<i>Lactobacillus casei</i> (100%)
14	F-14	<i>Lactobacillus plantarum</i>	액상	1.2 x 10 ⁵	<i>Bacillus subtilis</i> (60%) <i>Bacillus licheniformis</i> (30%) <i>Lactococcus lactis</i> (10%)
15	F-15	<i>Bacillus subtilis</i>	분말	4.8 x 10 ⁸	<i>Lactobacillus plantarum</i> (100%)
16	F-16	<i>Lactobacillus plantarum</i>	분말	4.2 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
17	F-17	<i>Bacillus subtilis</i>	액상	2.6 x 10 ⁵	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
18	F-18	<i>Bacillus subtilis</i>	액상	5.8 x 10 ⁶	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
19	F-19	<i>Bacillus subtilis</i>	분말	7.3 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
20	F-20	<i>Bacillus subtilis</i>	분말	9.6 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (60%) <i>Bacillus haynesii</i> (40%)

* 등록사항 일치 미생물제제 등록사항 불일치(유해미생물 검출) 미생물제제

○ 미생물 비료에 대한 효능평가 (*in vitro*)

- 미생물 비료의 *in vitro* 효능평가는 작물의 생육촉진과 관계있는 인산가용화능, 질소고정능, IAA(Indole-3-acetic acid) 측정을 수행하였음

▶ 인산가용화 (phosphate solubilizing) 측정

- 미생물의 인산가용화 기능은 토양의 난용성 인산을 가용화 함으로써 식물의 뿌리가 인산을 흡수할 수 있도록 돕기 때문에 대표적인 식물생장촉진능력으로 알려져 있음
- 미생물의 인산가용화 여부는 Pikovskaya(PVK) agar 배지를 이용하여 시료를 접종하며, 접종 후 미생물별 적정 온도에서 5~10일 동안 배양 하고 접종주위의 clear zone의 여부로 미생물의 난용성 인산 가용화 여부를 판단하게 됨
- 미생물 비료 제품 20개 중 2개(F-2, F-20)에서 clear zone을 확인하였음 (그림 3)
- 미생물 비료 제품 중에서 인산가용화측정 실험에 양성반응을 보인 2개 제품(F-2,20)은 식물생장에 도움을 줄 수 있는 제품으로 사료됨

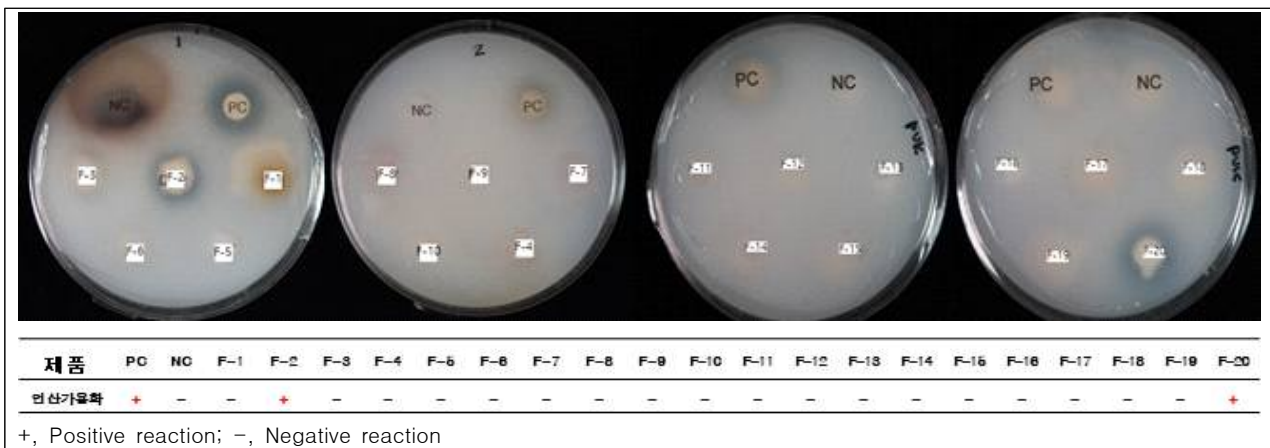


그림 3. 미생물 비료 제품의 인산가용화 측정 결과

▶ 질소 고정능 (Nitrogen Fixation) 측정

- 질소 고정능이란 대기나 토양의 질소(N_2)등이 생물(세균 또는 조류)에 의해 식물이 흡수할 수 있는 질소의 형태(암모니아태 NH_4^+ , 질산태 NO_3^-)로 환원할 수 있는 능력을 말함
- 미생물 비료 제품의 질소 고정능 측정은 Nfb(Nitrogen free broth) 배지를 이용하여 시료를 접종하며, 접종 후 미생물별 적정 온도에서 5~10일 동안 배양 하고 배지색의 변화에 의해 양성반응을 판단하였음
- 미생물 비료 제품 20개 중 10개(F-1, F-7, F-8, F-9, F-11, F-12, F-14, F-17, F-18, F-19)에서 양성반응을 확인하였음 (그림 4)
- 질소 고정능 측정에서 양성반응을 보인 10개의 제품은 식물의 질소원 공급을 유도하여 식물생장에 도움을 줄 수 있는 제품으로 사료됨

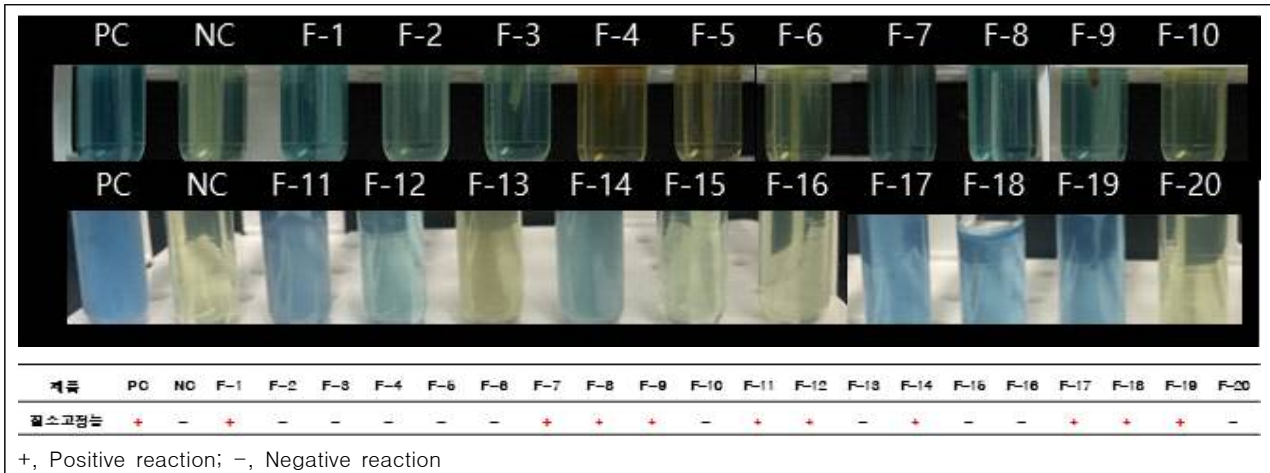


그림 4. 미생물 비료 제품의 질소고정능 측정 결과

▶ IAA (Indole-3-acetic acid) 측정

- IAA는 뿌리형성 촉진에 이용되는 식물성장 호르몬으로 알려져 있음
- 미생물 비료 제품의 IAA 측정은 Salkowski test를 이용하여 시료를 반응시키며, 반응 후 빛을 차단하고 30분 뒤 시약의 색 변화에 의해 양성반응을 판단하였음
- 미생물 비료제품 20개 중 6개(F-2, F-7, F-8, F-11, F-12, F-14)에서 양성반응을 확인하였음 (그림 5)
- IAA 양성반응을 보인 6개의 제품은 식물생장에 도움을 줄 수 있는 제품으로 사료됨

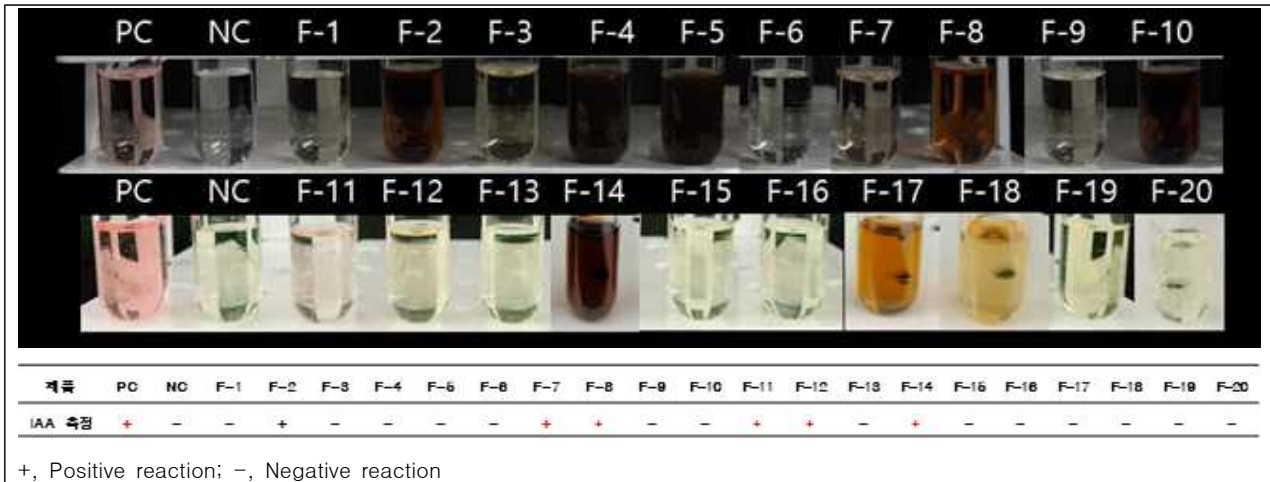


그림 5. 미생물 비료 제품의 IAA(Indole-3-acetic acid) 측정 결과

○ 미생물 비료에 대한 효능평가 (*in vivo*)

▶ 작물 생육 촉진 효능 평가

- 미생물 비료의 *in vivo* 효능평가는 선정된 미생물 비료의 대상작물인 고추, 배추, 토마토를 이용하고 각 작물에 대한 작물 생육 촉진 효능 항목(유묘 상부길이, 상부 생중량, 상부 건조량, 엽장, 엽폭, 엽병 측정, 엽록소 함량 측정)은 동일하게 적용하였음 (그림 6)

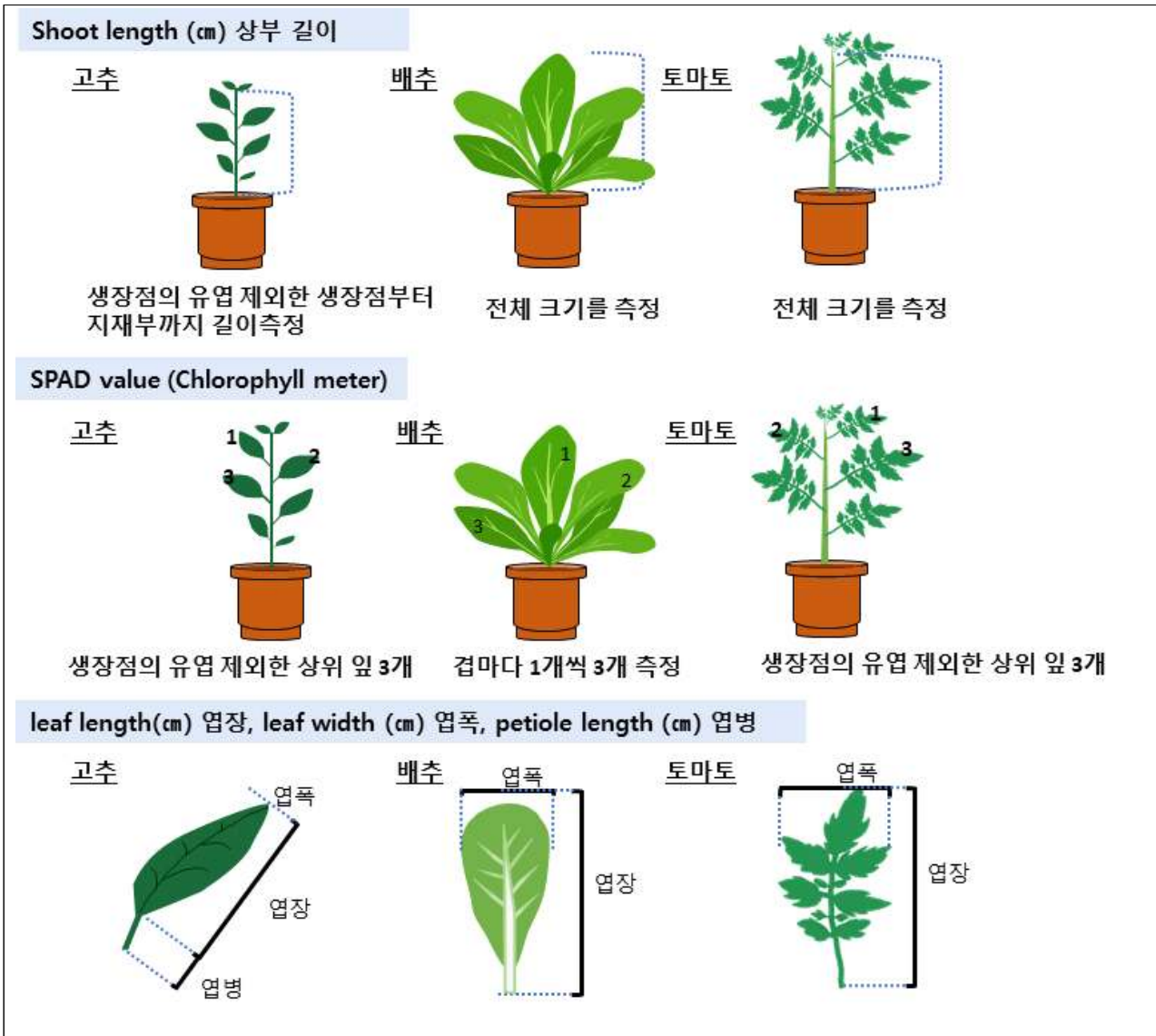


그림 6. 작물용 미생물 제제의 *in vivo* 효능 5가지 측정 항목(유묘 상부 길이, 상부 생중량, 상부 건조량, 고추잎 측정(엽장, 엽폭, 엽병) 방법, 배추 측정(엽장, 엽폭) 방법, 토마토(엽장, 엽폭) 방법)

▶ 토양개선 평가

- 토양개선평가를 위한 토양화학분석은 국립농업과학원의 '토양화학분석법'을 참조하여 수행하였음
- pH(물질이동 및 작물 생육 관련 지표)는 시료와 증류수를 1:5비율로 섞어 pH meter로 분석하는 1:5 H₂O 방법을 활용하였으며, 치환성 양이온(뿌리 발육, 신진대사 관련 지표)은 NH₄OAc로 추출 후 ICP(또는 ICP-Mass)를 이용하는 분석방법으로 진행되었음. 유효인산(생육초기 성장 관련 지표)은 Lancaster법을 활용하여 추출 후 ICP(또는 ICP-Mass)를 사용하는 분석방법으로 진행하였고, 총 질소(세포 분열과 증식 관련 지표)는 Kjeldhal법을 활용하여 분석하였음

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정 방법

- 미생물 비료의 작물 적용 방법으로 고안한 (가) 검정법은 미생물 비료 제품 10개(F-1 ~ F-10)에 대하여 수행되었으며 미생물 비료 판매 시 기술된 [사용법]에 따라 고추, 배추, 토마토 작물에 효능평가

(in vivo) 실험 수행함 (그림 7)

- 각각의 종자는 포트에 식재 후 발아 시키고 멸균 흙(원예용 상토)에 모종을 정식 한 뒤 미생물 비료의 각 회사에서 권장하는 미생물 비료 처리방법인 관주처리 및 엽면시비 처리법을 적용하였음 (표 9)
- 종자를 최초 심은 날로부터 9주차(정식 후 5주차)에 정성 혹은 정량 평가를 수행하였음

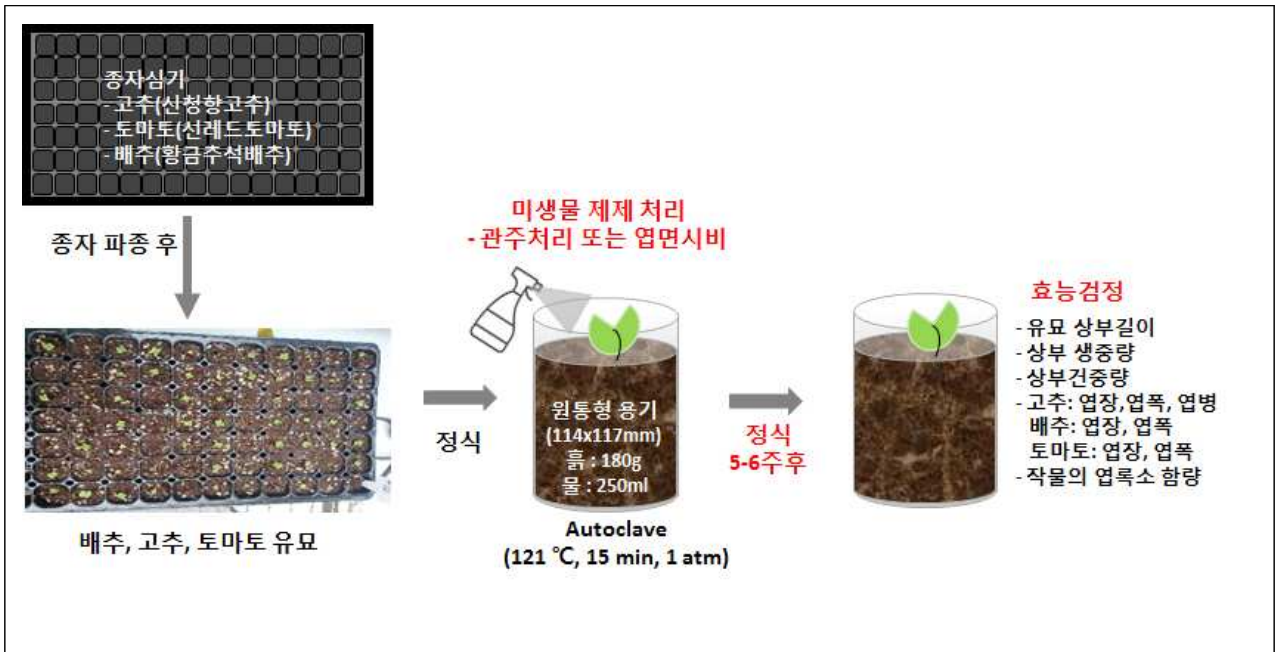


그림 7. 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정 방법의 in vivo 효능 실험 절차

표 9. 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정 방법 적용 제품 특성

비료	사용방법	제형	희석배수(물 20L당 사용량)
Negative control	무처리	-	-
positive control	엽면시비(7~10일 간격 1~5회) 배추: 전생육기간 800배 고추, 토마토: 유묘기 800~1000배, 전생육기간: 800배 약 200g/250L 희석수확 10일전 : 800배	액제	800배 (25g)
F-1	정식전후	입제	5kg/500~1000m2 희석 후 관주
F-2	정식 1~2개월 전 : 유기물, 퇴비사용 후 100배액으로 희석하여 살포 후 경운 정식전후 500~1,000배(20~40ml)희석 후 관주	액제	500~1,000배(20~40ml)희석 후 관주
F-3	정식 전 : 1kg/150m2을 상면에 직접 또는 상토와 섞어 뿌리거나 100~200배 희석하여 관주 이식시 : 100~200배 희석액을 3 m2당 2~4L씩 관주	입제	입제처리 : 1kg/150m2을 상면섞음, 관주처리: 100~200배 희석후 3m2당 2~4L씩 관주
F-4	관주: 액 10L를 물 6~7톤에 타서 4~5일간격 2~3g회관주/ 엽면살포 : 액 10L를 물 400~500L에 희석 살포	입제	40~50배(400~500ml)
F-5	전 생육기간-작물 정식 후 500배 희석 엽면살포 1-2주 간격	액제	500배 희석
F-6	관주처리/엽면시비	액제	1000배 희석(20ml)
F-7	고추, 배추: 정식기, 성장기- 15일 간격 3회 엽면살포/관주(500~1000배 희석)/ 토마토:정식기, 성장기- 10일 간격 3회 엽면살포/관주(500~1000배 희석)	액제	500~1000배 희석
F-8	발작물: -정식전 작물 뿌리침지 (침지:200g/250L/300평)-예방 : 정식 직후, 2주, 4주, 8주 간격 관주처리(3~4회: :200g/250L/300평)-치료: 관주 및 hot spot 지역 경엽처리: :200g/250L/300평 입제:토양 경운전 또는 이랑 형성시 입제 살포(5kg/200평)/ 분말 : 식물 정식시 뿌리부분 침지 또는 엽면살포(약 200g/250L 희석)	입제	약 200g/250L 희석
F-9	정식 후 토양관주처리 500배 엽면시비: 1000배	액제	500배 희석(40ml)
F-10	정식시 500~1000배 희석 1차 관주처리, 7~10일 후 2차 관주처리	액제	500~1000배(20~40ml)

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정법에 의한 고추의 *in vivo* 효능 측정

- 고추의 경우 고추 잎의 길이는 미생물 비료 제품 2개(F-6, F-7)에서 대조군에 비교하여 유의한 수준으로 잎의 길이(엽장)가 늘어났으나, 잎의 길이를 제외한 나머지 모든 항목에서 대조군(무처리구) 및 상업적으로 사용되는 비료(유기질비료)와 유의적인 차이가 없었음($P < 0.05$) (그림 8)

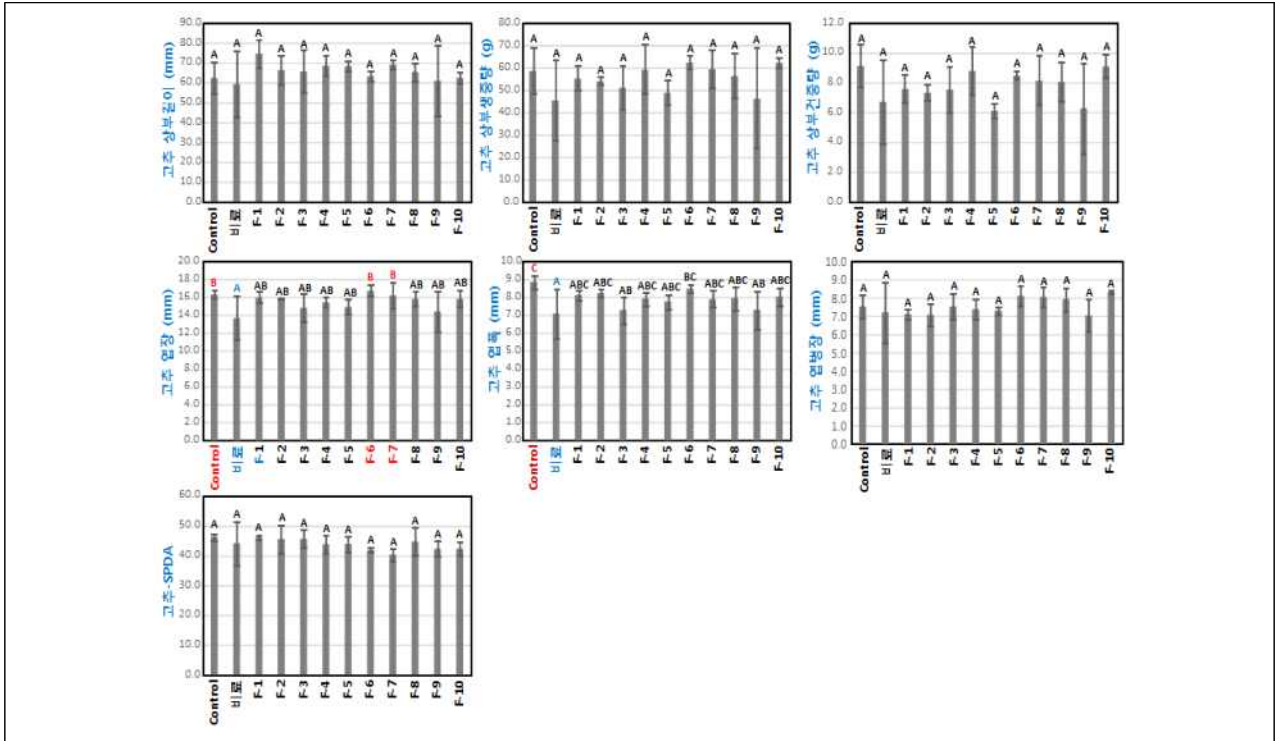


그림 8. 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정법에 의한 고추 생육 촉진 *in vivo* 효능 실험 결과 (Duncan's 다중 검정법 산출)

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정법에 의한 배추 *in vivo* 효능 측정

- 배추의 상부길이는 대조군과 대비하여 미생물 비료 제품 1개(F-5)에서 유의한 수준으로 증가하는 것으로 보였으나, 서로 처리군들과 유의적 차이를 보이지 않아 작물 생육 촉진 효과가 증가하는 것으로 보이지 않았음 (그림 9)
- 배추 엽폭의 경우 미생물 비료 제품 2개(F-3, F-9)가 대조군과 비교하여 유의적인 수준으로 증가되는 것으로 나타났음
- 배추의 엽록체 함량의 경우도 미생물 비료 제품 1개(F-4)에서 대조군과 비교하여 유의적인 수준으로 증가되는 것으로 나타났으며, 이외의 다른 모든 항목에서 유의성이 없었음

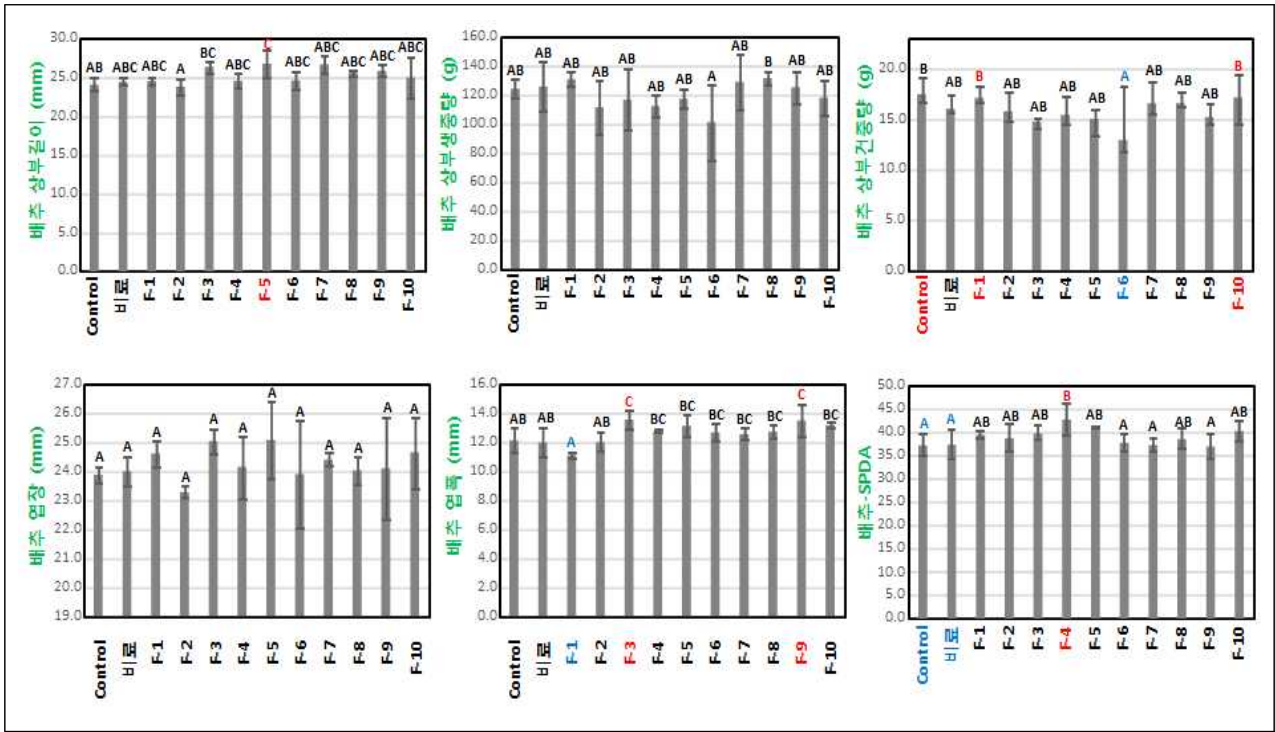


그림 9. 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정법에 의한 배추 생육 촉진 *in vivo* 효능 실험 결과 (Duncan's 다중 검정법 산출)

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정법에 의한 토마토 *in vivo* 효능 측정

- 토마토의 상부길이는 대조군 대비 미생물 비료 제품 1개(F-9)에서 유의한 수준으로 증가함. 그러나, 다른 미생물 비료 제품 처리군들과 비교했을 때, 2개 제품(F-2, F-7)을 제외하고는 나머지 처리군들과 유의적 차이를 보이지 않아 작물 생육 촉진 효과가 크게 증가하는 것으로 보이지 않았음 (그림 10)
- 토마토 엽폭의 경우 미생물 비료 제품 1개(F-2)가 유의적으로 늘어나는 것으로 보였으나, 대조군과 차이가 없어, 미생물 처리제가 크게 영향을 미치지 않았음
- 이외의 다른 모든 항목에서 통계학적인 유의성이 없었음

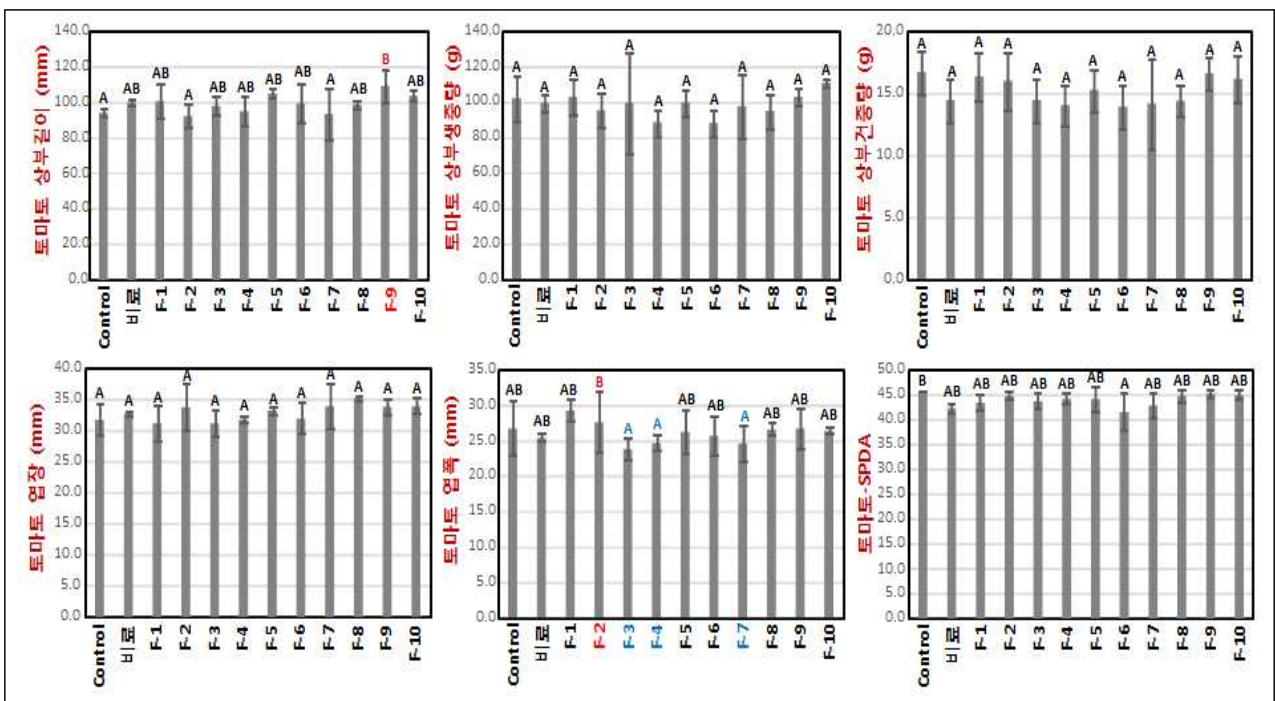


그림 10. 미생물 비료의 작물 적용 (가) 검정법에 의한 토마토 생육 촉진 *in vivo* 효능 실험 결과 (Duncan's 다중 검정법 산출)

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정 방법

- 미생물 비료의 작물 적용 방법이 추가적으로 고안된 (나) 검정법은 미생물 제품의 품질평가 시 등록균주와 일치하는 미생물 비료 제품 11개(F-1, F-2, F-6, F-10, F-13, F-15, F-16, F-17, F-18, F-19, F-20)에 대하여 수행되었으며 미생물 비료를 토양에 권장량 처리(1X) 및 권장량의 5배 처리(5X) 후 대상작물인 고추, 배추, 토마토에 효능평가(*in vivo*) 실험을 수행하였음 (그림 12, 표 10)
- 고추, 배추, 토마토 각각의 종자는 배양기에서 발아 후 흙(원예용 상토)에 옮겨 모종을 준비함. 또한 각 미생물 비료에 맞는 권장 사용량을 흙(원예용 상토)에 섞은 뒤 각 작물의 유묘를 옮겨 심고 파종한 날로부터 4주차에 정성, 정량 평가를 수행하였음
- 유의성 검정은 SPSS 프로그램을 이용하여 Negative control(무처리구), Positive control(유기질비료)과 더불어 약제 1개 처리구(1배와 5배)를 비교 검정하였음

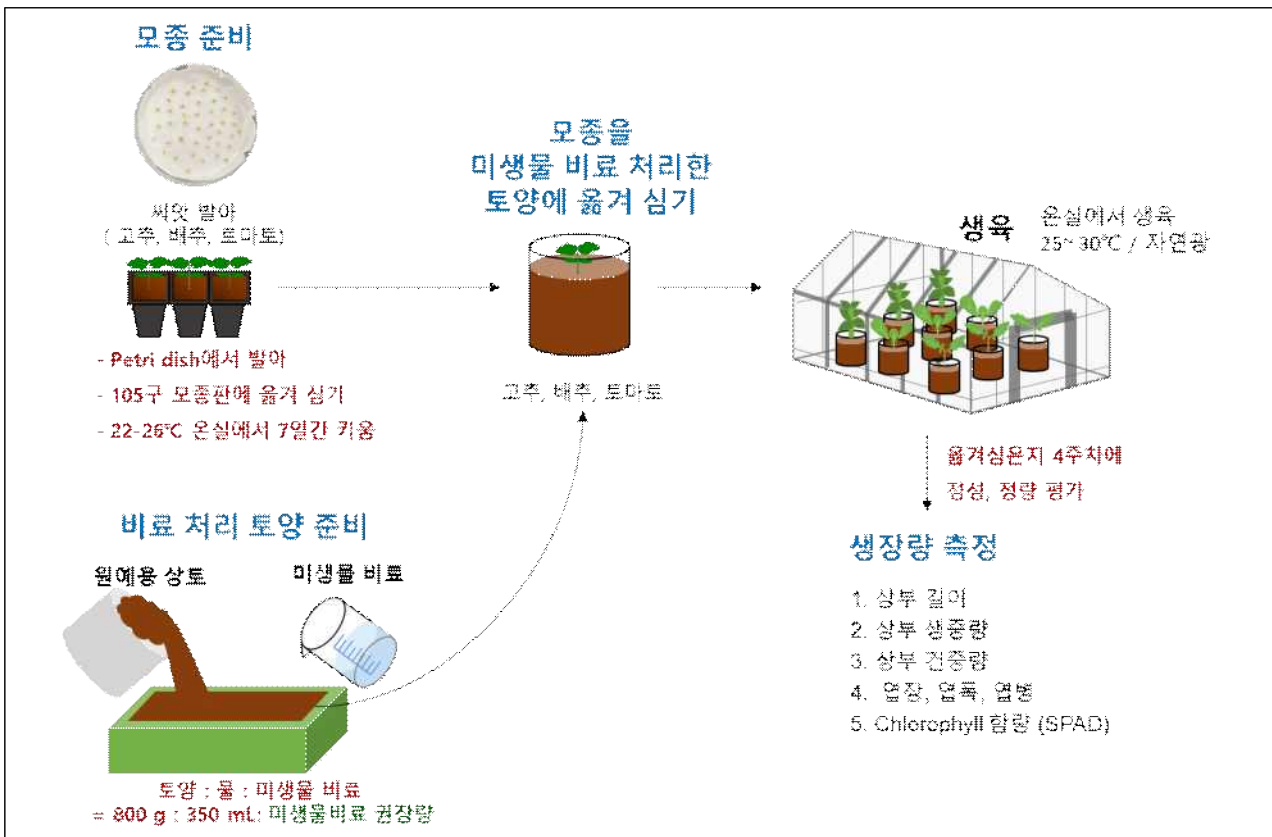


그림 12. 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법의 *in vivo* 효능 실험 절차

표 10. 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정 방법 적용 제품 특성

비료	사용방법	제형	희석배수(물 20L당 사용량)
Negative control	무처리		
positive control	엽면시비(7~10일 간격 1~5회) 배추: 전생육기간 800배 고추, 토마토: 유묘기 800~1000배, 전생육기간: 800배 약 200g/250L 희석수확 10일전 : 800배	액제	800배 (25g)
F-1	정식전후	입제	5kg/500~1000m ² 희석 후 관주
F-2	정식 1~2개월 전 : 유기물, 퇴비사용 후 100배액으로 희석하여 살포 후 경운 정식전후 500~1,000배(20~40ml)희석 후 관주	액제	500~1,000배(20~40ml)희석 후 관주
F-6	토양 경운전 또는 이랑 형성시 입제 살포 1차 관주처리 후 약 2주내 2차 관주처리 (종자 분의처리시 분말제품 1개당 종자 약 40~80kg 분의처리)	입제	5kg/660m ²
F-10	관주처리	액제	1000배 희석
F-13	관주처리	액제	1000배 희석
F-15	정식 후 200g을 물에 희석하여 200평 관주처리	입제	200g/660~990m ²
F-16	관주처리	입제	1kg/500~600m ²
F-17	관주처리	입제	1kg/500~600m ²
F-18	1000배 희석액 관주처리/20L를 물에 희석하여 300평 관주	액제	1000배/300평
F-19	정식후, 500배 희석하여 토양 관주처리, 200평당/1L 하여 토양 관주 5일간격으로 2~3회 토양 관주	액제	500배 희석
F-20	이식(파종)전 상면에 살포 후 혼합	입제	5~10kg/300m ²

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 고추 *in vivo* 효능 측정

- 고추의 경우 생중량 측정 결과가 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 2개(F-1(1×,5×), F-17(1×,5×))에서 유의적으로 증가하였음
- 또한 고추 잎의 엽록소(chlorophyll) 함량은 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 4개(F-1(1×,5×), F-2(1×,5×), F-13(5×), F-17(1×,5×))에서 모두 유의적으로 증가하였음 (그림 13)

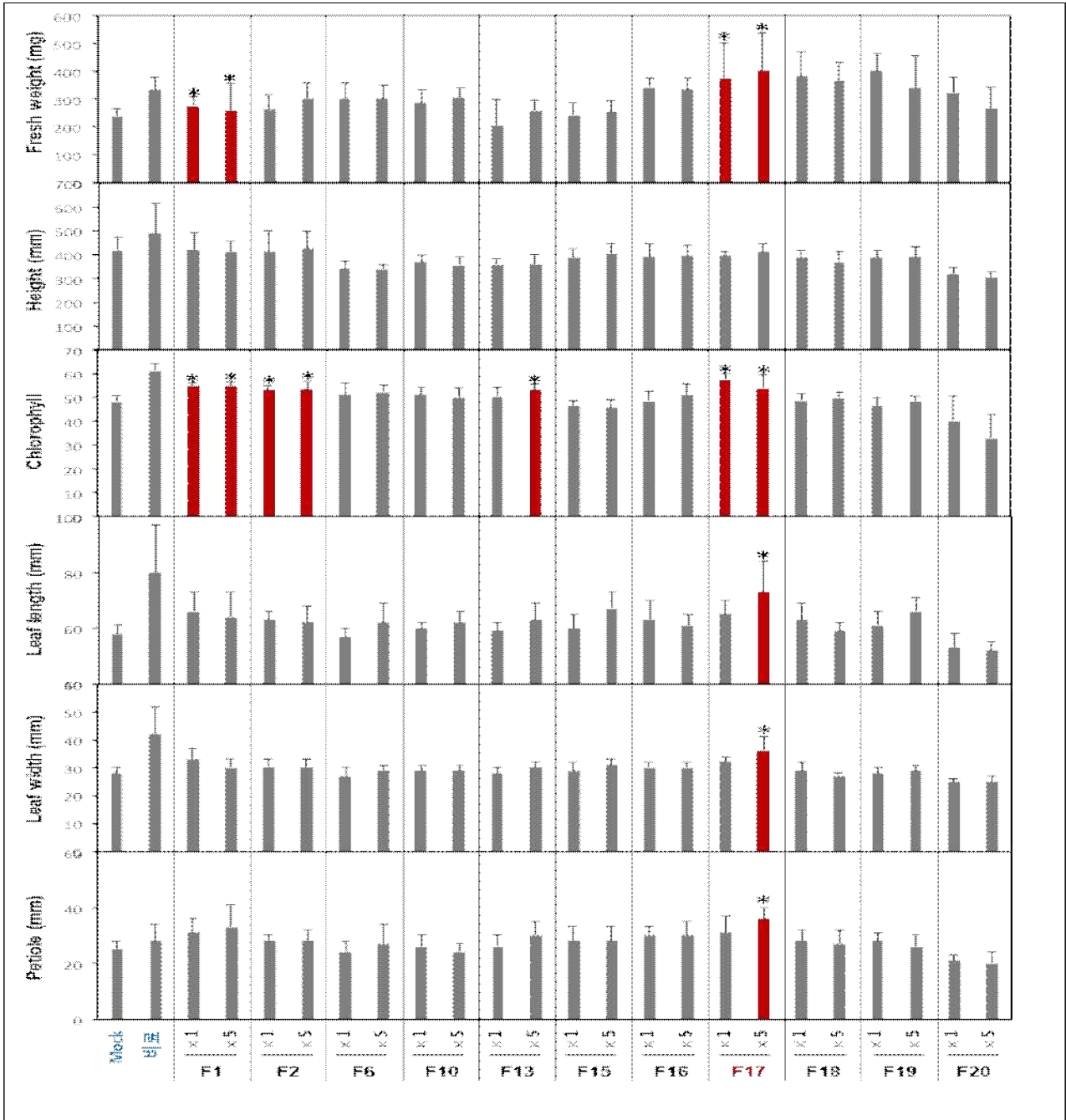


그림 13. 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 고추 생육 촉진 *in vivo* 효능 실험 결과

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 고추 토양 개선 평가

- 미생물 비료 11종을 처리 후 *in vivo* 효능 실험 종료된 고추 작물의 토양에서 pH는 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 2개(F-13(1×), F-20(5×)) 처리 시 유의적으로 증가하였음
- 토양의 치환성 양이온은 무처리구에 비해 미생물 비료를 처리 시 대부분의 처리구에서 유의적으로 증가하였음
- 토양의 유효인산은 무처리구와 대비 시 미생물 비료 제품 1개(F-17(1×,5×))에서 유효인산 측정치가 유의적으로 증가하였음 (그림 14)

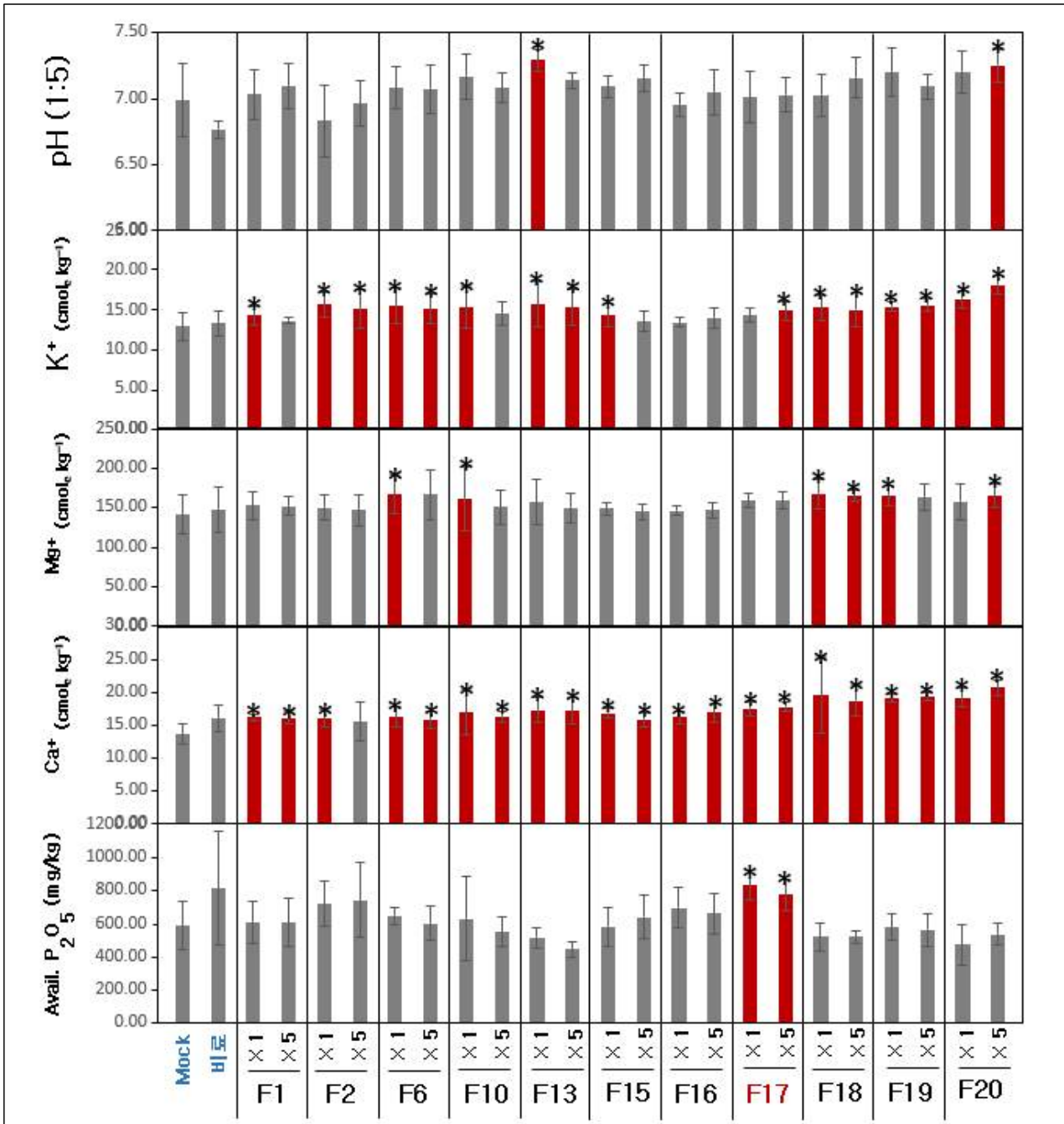


그림 14. 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 고추의 토양 화학성 분석 결과

- 미생물 비료의 작물 생육 촉진 *in vivo* 효능 평가 항목들이 무처리구와 비교 시 유의적인 결과를 확보할 수 있었는데, 특히 미생물 비료 제품 1개 (F-17(5×))에서 작물의 생육도가 가장 크게 변화되었고 토양 화학성 분석 결과와 작물 생육도 결과를 살펴볼 때 토양 화학성 분석 항목 중 유효인산이 작물 생육도와 연관성이 큰 것으로 판단됨

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 배추 *in vivo* 효능 측정

- 배추의 경우 생중량 측정 결과가 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 1개(F-16(1×,5×))에서 유의적으로 증가하였음
- 또한 배추 잎의 엽록소(chlorophyll) 함량은 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 1개(F-6(1×))에서 유의적으로 증가하였음 (그림 15)

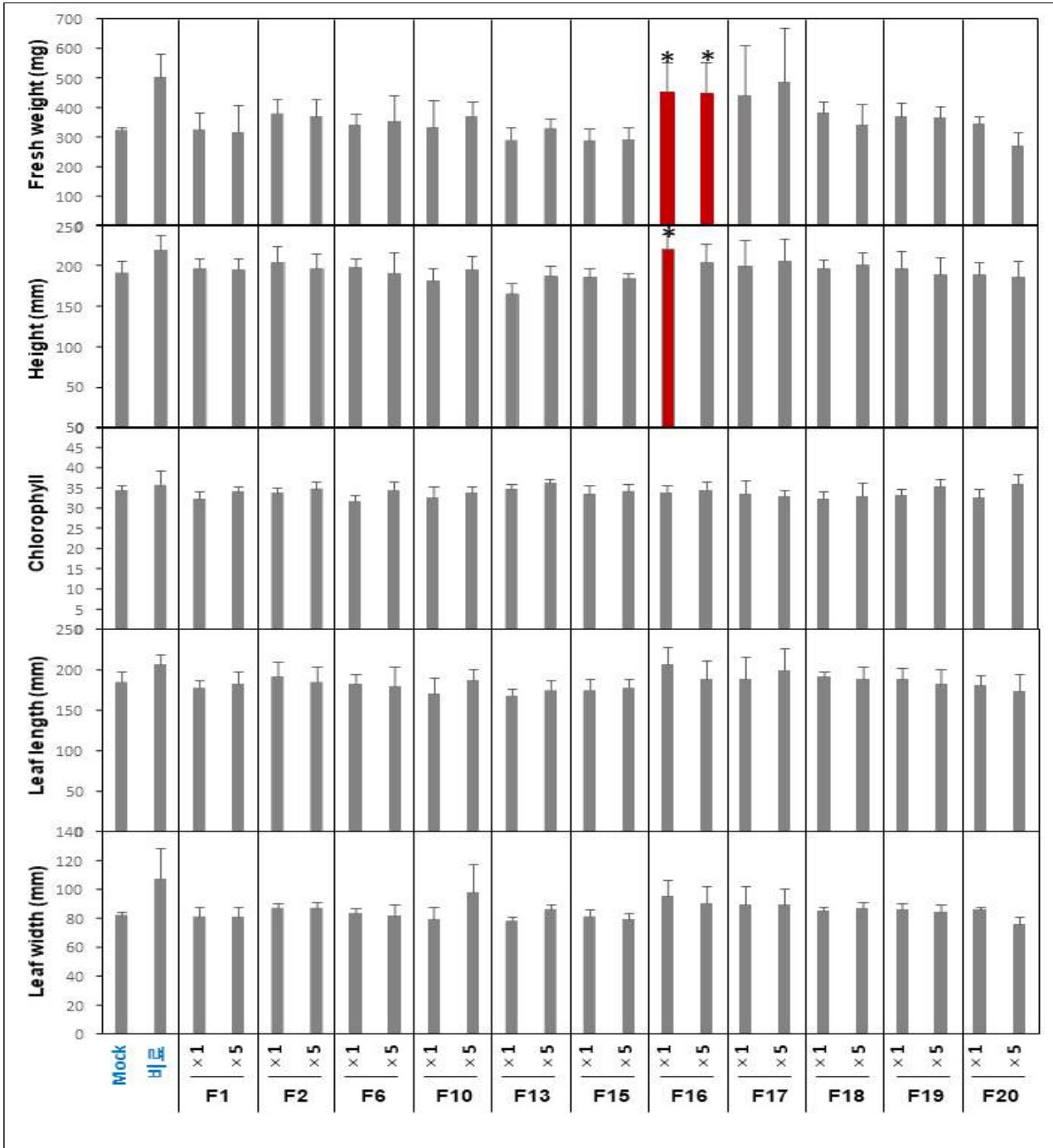


그림 15. 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 배추 생육 촉진 *in vivo* 효능 실험 결과

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 배추 토양 개선 평가

- 미생물 비료 11종을 처리 후 *in vivo* 효능 실험 종료된 배추 작물의 토양에서 pH는 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 8개(F-10(1×,5×), F-13(1×,5×), F-15(1×,5×), F-16(1×,5×), F-17(1×,5×), F-18(1×,5×), F-19(1×,5×), F-20(1×,5×))처리 시 유의적으로 증가하였음
- 토양의 치환성 양이온은 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 1개(F-6(1×,5×))를 제외한 모든 처리구에서 유의적 증가치를 보였음
- 토양의 유효인산은 무처리구와 대비 시 유의한 결과가 없었음 (그림 16)

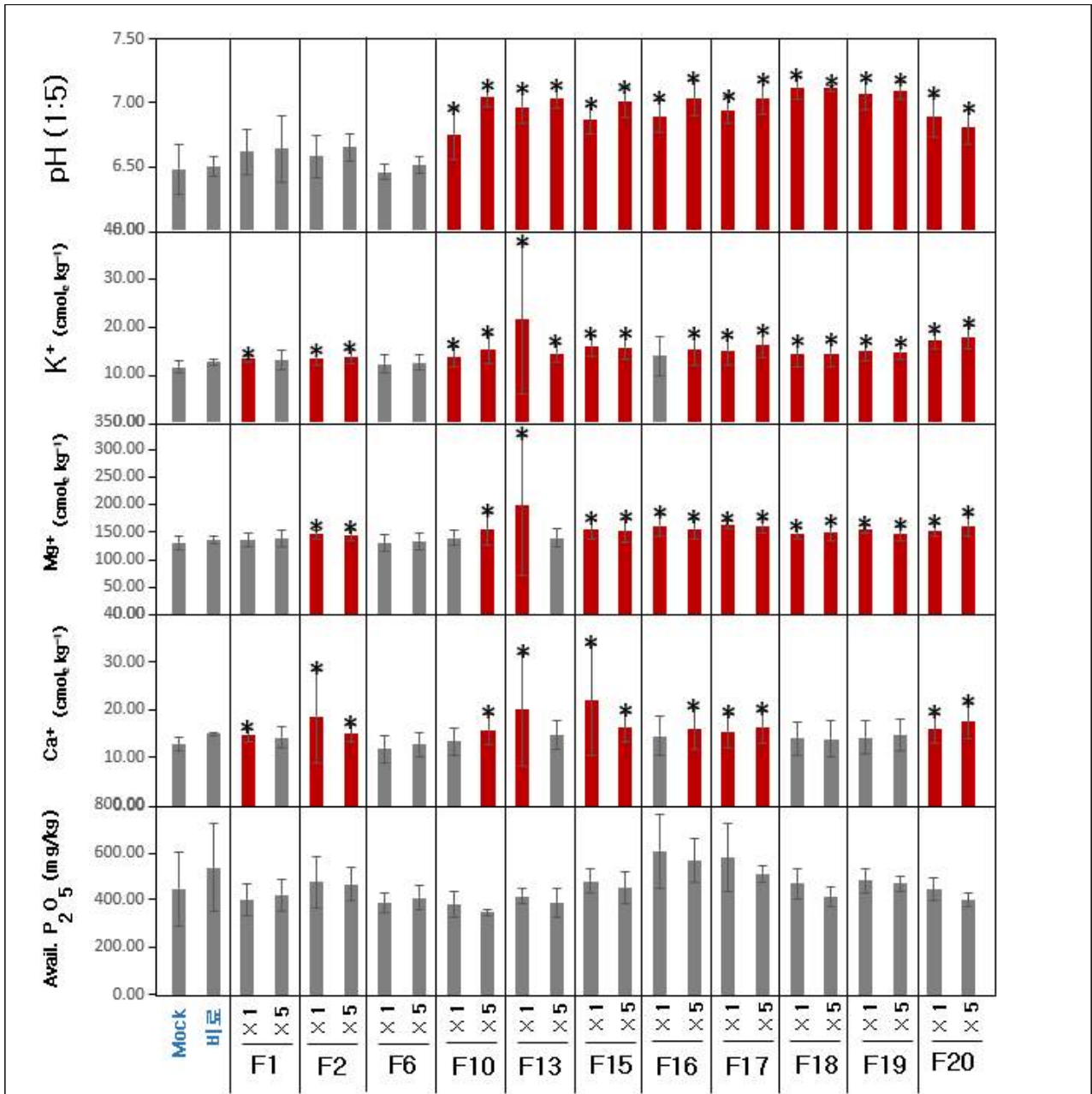


그림 16. 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 배추의 토양 화학성 분석 결과

- 미생물 비료의 작물 생육 촉진 *in vivo* 효능 평가 항목들이 무처리구와 비교 시 유의적인 결과를 확보할 수 있었으며 작물의 생육도 결과와 유효인산의 결과가 비슷한 양상을 보이는 것이 확인됨. 이와 같은 결과로 유효인산이 작물 생육도에 있어 연관성이 큰 것으로 판단됨

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 토마토 *in vivo* 효능 측정

- 토마토의 경우 생중량 측정 결과가 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 8개(F-2(5×), F-6(1×,5×), F-10(1×,5×), F-16(1×,5×), F-17(1×,5×), F-18(1×, 5×), F-19(1×,5×), F-20(1×))에서 유의적으로 증가함
- 또한 토마토 잎의 엽록소(chlorophyll) 함량은 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 8개 (F-10(1×,5×), F-13(1×,5×), F-15(1×,5×), F-16(1×,5×), F-17(5×), F-18(1×,5×), F-19(1×,5×), F-20(1×,5×))에서 유의적으로 증가함 (그림 17)
- 토마토의 엽장길이는 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 2개(F-16(1×,5×), F-19(15×))에서 유의적으로 증가함
- 토마토의 엽폭길이는 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 2개(F-16(1×,5×), F-19(15×))에서 유의적으로 증가함

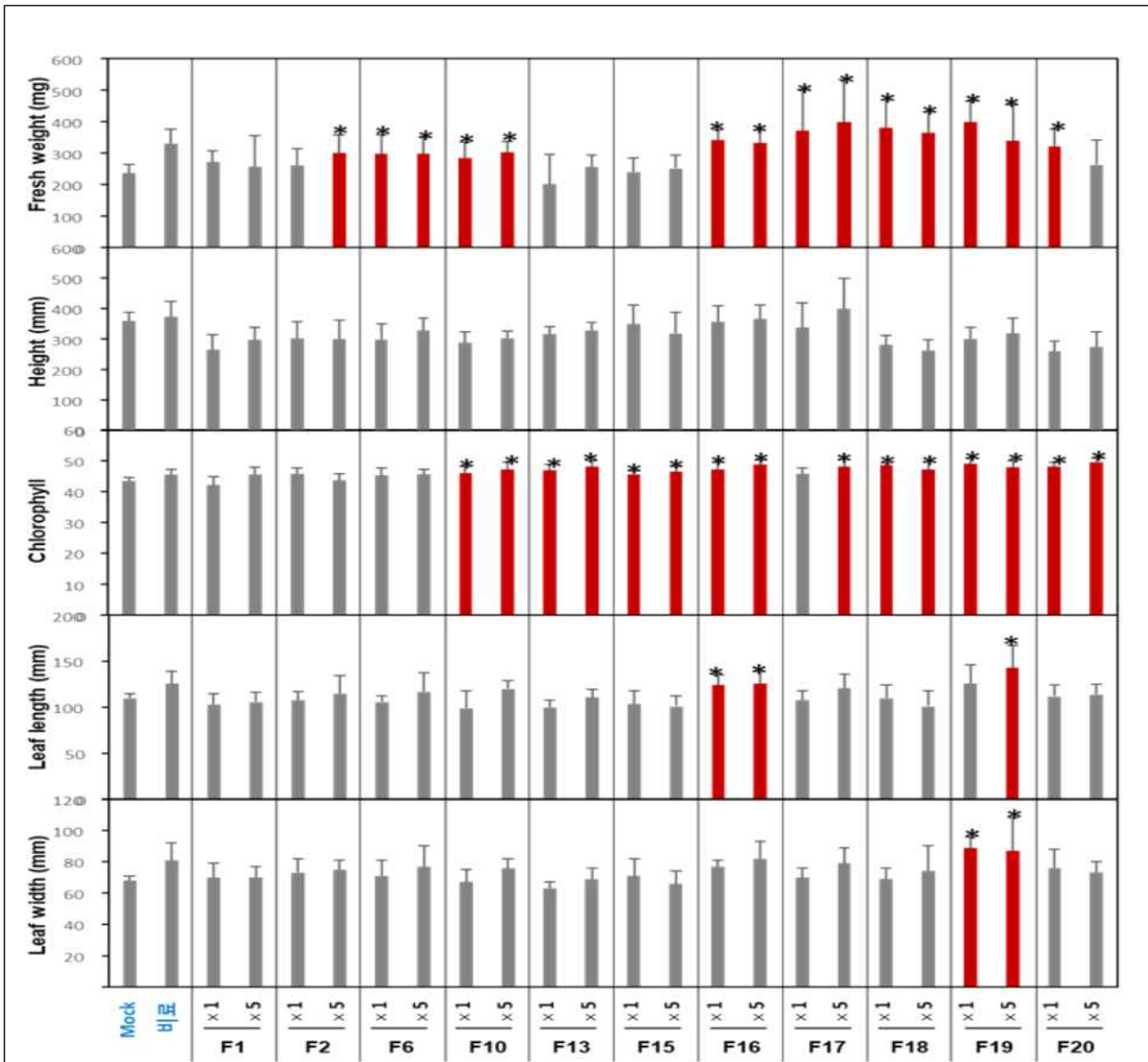


그림17. 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 토마토 생육 촉진 *in vivo* 효능 실험 결과

▶ 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 토마토 토양 개선 평가

- 미생물 비료 11종을 처리 후 *in vivo* 효능 실험 종료된 토마토 작물의 토양에서 pH는 무처리구에 비해 미생물 비료 제품 2개(F-13(5×), F-20(5×))처리 시 유의적으로 증가하였음
- 토양의 치환성 양이온은 무처리구 에 비해 미생물 비료 제품 1개(F-1(1×,5×))를 제외한 모든 처리구에서 유의적 증가치를 보임
- 토마토 토양의 유효인산은 무처리구와 대비 시 미생물 비료 제품 7개(F-1(1×,5×), F-2(1×,5×), F-6(1×,5×), F-16(1×,5×), F-17(1×,5×), F-19(1×,5×), F-20(1×))에서 유효인산 측정치가 유의적으로 증가하였음 (그림 18)

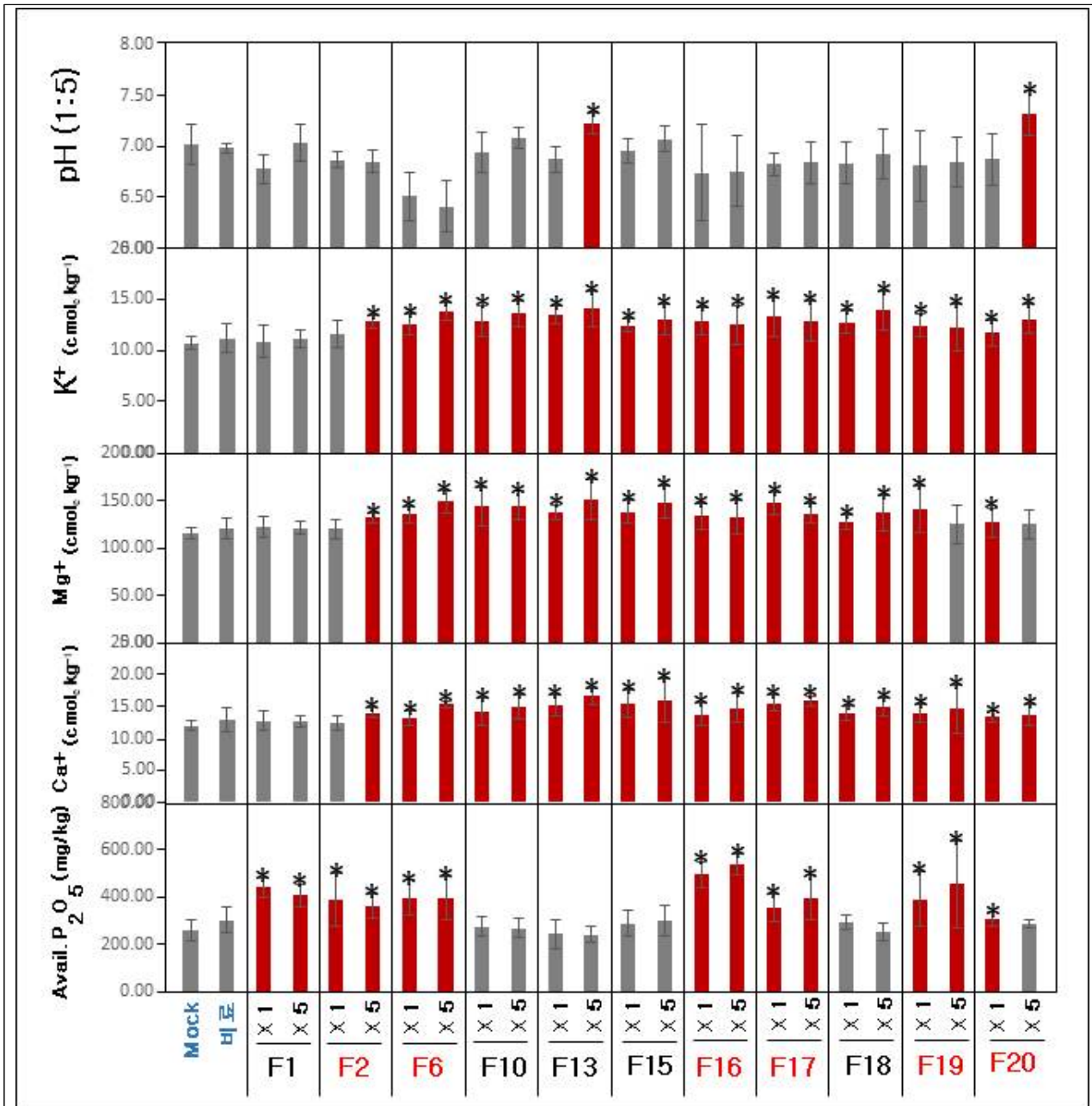


그림 18. 미생물 비료의 작물 적용 (나) 검정법에 의한 토마토의 토양 화학성 분석 결과

- 미생물 비료의 작물 생육 촉진 *in vivo* 효능 평가 항목들이 무처리구와 비교시 유의적인 결과를 확보할 수 있었으며, 작물 생육도 항목이 2가지 이상 변화된 처리구는 미생물 비료 제품 6개(F-10, F-16, F-17, F-18, F-19, F-20)였음. 이 중 유효인산이 증가된 처리구는 F-16, F-17, F-19, F-20 제품으로 6개의 처리구 중 4개의 처리구에서 토마토의 생육도 증가가 확인되었으며, 유효인산이 작물 생육도에 있어 다른 지표들에 비해 연관성이 큰 것으로 판단됨

▶ 미생물 비료의 작물 적용을 위한 효과 분석 종합 의견

- 미생물 비료 제품의 품질평가 결과 20개 제품들 중 등록사항과 일치하는 제품은 11개(F-1, F-2, F-6, F-10, F-13, F-15, F-16, F-17, F-18, F-19, F-20)로 평가되었으며, 이들 11개 제품 중 효능평가(*in vitro*) 결과 인산가용화, 질소고정능, IAA 측정의 효능을 나타낸 제품은 6개(F-1, F-2, F-17, F-18, F-19, F-20)로 나타남
- 미생물 비료의 작물 적용 *In vivo* 검증법 (가)와 (나)를 비교하였을 때, (가) 검증법의 경우 고추, 배추, 토마토 작물에 수행된 대부분의 평가 지표항목에서 유의적 차이를 볼 수 없었던 반면, (나) 검증법의 경우 고추, 배추, 토마토 작물에서 제품별로 유의적인 차이를 보이는 평가항목을 확인할 수 있었음
- 미생물 비료의 *In vivo* 효능 평가를 수행한 결과, 생육도와 토양 개선 효과 결과가 고추, 배추, 토마토 작물마다 상이함을 확인할 수 있었음
- 미생물 비료의 사용 권장량의 1배와 5배로 처리하여 *In vivo* 효능 평가를 비교확인 하였고 그 중, 5배로 처리 시 효과적인 결과를 얻을 수 있는 점으로 보아 권장량의 5배 처리를 제안할 수 있음
- 토마토 작물에 대한 결과를 보면 F-1제품을 제외한 모든 처리구에서 작물 생육 및 토양 개선 효과가 나타났으며, *in vitro*와 *in vivo* 모두에서 효능을 보인 제품은 5개 제품(F-2, F-17, F-18, F-19, F-20)였음
- 미생물 비료 제품 중 F-17은 *In vitro* 효능 평가에서 작물생육 촉진 효과인 질소 고정능 효과를 보이고 *in vivo* 효능 평가에서 고추와 배추의 작물 생육 촉진 지표에 대한 효과를 뿐만 아니라 3종류의 모든 작물의 토양 개선 효과를 보임으로써 미생물 비료로써의 작물 생육 촉진효과에 우수성을 기대할 수 있었음
- 더불어 F-17 은 *in vivo*에서만 효능을 보인 제품(F-6, F-10, F-13, F-15)보다 작물 생육 지표의 변화가 더 큰 경향이 확인되었고, 토양 개선 효과 항목 중 유효인산의 유의적 결과가 효능 평가의 중요한 지표로 보임
- *In vitro* 평가항목과 *in vivo* 평가 항목을 비교한 결과 일부 제품은 효능이 일치하지 않는 경향을 보였으나, 전반적으로 *in vitro* 평가 항목 역시 *in vivo* 평가 결과에 영향을 주는 것을 확인함으로써 향후 제품 효능 평가 (*in vitro*, *in vivo*)를 통해 미생물 비료 제품의 효과를 평가하는 것이 적절한 방법이라 판단됨
- 또한 작물의 종류에 따라 제품의 효과가 상이하게 나타나는 것으로 보아 작물의 종류 또한 제품 평가에 있어 중요한 지표임을 시사함
- 최종적으로 미생물 비료제품의 신뢰도 제고를 위해 (나) 검증법에 기반한 제품 품질평가 및 작물 별 효능평가(*in vitro*, *in vivo*) 방안을 제안함

□ 미생물 농약

○ 미생물 농약 선정 및 특성

- 제품의 원활한 확보를 위해 유기농업자재에 등록되어 있는 제품으로 고려하였음
- 고추, 배추, 토마토에 적용 가능한 제품을 검토하여 제품을 선정하였음
- 제품의 표기는 'Disease'의 약자인 'D'로 명명하였고, 1번부터 10번까지 제품의 순서를 나열하였음 (표 11)

표 11. 미생물 농약(유기농업자재; 병해충관리용) 선정제품 및 특성

No.	제품명	등록균주	생균수	적용가능 병해충	비고
1	D-1	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁵ cfu/g	탄저병	천연식물보호제
2	D-2	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	5.0*10 ⁶ cfu/g	역병, 무름병	천연식물보호제
3	D-3	<i>Simplicillium lamellicola</i>	5.0*10 ⁷ cfu/g	꽃마름병, 시들음병, 잿빛곰팡이병	천연식물보호제
4	D-4	<i>Bacillus subtilis</i>	5.0*10 ⁹ cfu/g	흰가루병, 잎곰팡이병	천연식물보호제
5	D-5	<i>Trichoderma harzianum</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g	잿빛곰팡이병, 탄저병, 균핵병, 잎곰팡이병, 녹병균	유기농업자재
6	D-6	<i>Streptomyces griseofuscus</i>	1.0*10 ⁵ cfu/g	탄저병, 역병	유기농업자재
7	D-7	<i>Streptomyces griseus</i>	5.0*10 ⁶ cfu/g	꽃마름병	유기농업자재
8	D-8	<i>Bacillus amyloliquefaciens, Pseudomonas putida</i>	5.0*10 ⁷ cfu/g	시들음병, 꽃마름병	유기농업자재
9	D-9	<i>Trichoderma atroviride</i>	5.0*10 ⁹ cfu/g	꽃마름병	유기농업자재
10	D-10	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g	탄저병, 뿌리혹선충	유기농업자재

○ 미생물 농약에 대한 품질 평가

- 미생물 농약에 대한 품질평가는 미생물 비료제품과 동일한 방법으로 제품에서 미생물을 분리 후 총 균수 측정과 유전자분석을 통한 미생물 동정으로 진행하였음

▶ 총 균수 측정 및 미생물 동정

- 미생물 농약에 대해 성분등록 균주 및 총 균수 측정을 위해 등록성분별 미생물의 적정배지에 10진 희석법을 통해 제품을 도말하여 미생물을 분리하고 미생물별 적정온도에서 배양 후 총 균수를 측정하였음
- 분리한 미생물 colony를 무작위(random)로 선별 및 확보하여 세균의 경우 16S rRNA, 진균의 경우 ITS 유전자 부위의 primer를 사용하여 유전자 분석을 수행하였음
- 미생물 농약 제품 내에 우점하고 있는 미생물 우점균을 분석하였음

▶ 미생물 농약 품질 평가 결과

- 미생물 농약에 대해 총 균수 측정 및 성분등록 균주 확인을 위해 등록성분별 미생물에 대한 품질평가를 수행한 결과 총 균수는 대부분의 제품이 등록사항과 유사하거나 높은 결과를 나타내었음
- 미생물 농약제품의 품질평가 결과 미생물 동정 측정은 등록사항과 일치하는 미생물 함유 제품이 6개 (D-1, D-3, D-4, D-5, D-9, D-10)였으며 표 11에 초록색으로 표기하였음
- 미생물 농약 제품 중 1개 제품(D-8)은 등록사항과 일치하는 미생물이 일부만 포함되어 있었으며 붉은색으로 표기하였음
- 미생물 농약 제품 중 2개 제품 (D-6, D-7)은 *Streptomyces* 균주로 등록되어 있는데 품질평가에서 미생물이 검출되지 않거나 기준치보다 낮은 총 균수를 나타냄으로써 미생물이 제품 내에 생존하는 안정성에 어려움이 있음을 확인하였음 (표 12)

- 이러한 결과는 미생물 비료제품의 품질평가 결과와 마찬가지로 미생물 농약제품 역시 꾸준하고 체계적인 미생물 제품 품질 평가가 필요함을 크게 시사함

표 12. 미생물 농약 제품의 품질평가

순번	등록사항			측정결과	
	상품명	균주	제품 형태	총균수 측정 (CFU/mL)	미생물 동정(우점균) 측정
1	D-1	<i>Bacillus subtilis</i> 10 ⁵	분말	3.3 x 10 ⁶	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
2	D-2	<i>Paenibacillus polymyxa</i> 10 ⁶ 이상	액상	3.3 x 10 ⁷	<i>Bacillus velezensis</i> (60%) <i>Paenibacillus peoriae</i> (40%)
3	D-3	<i>Simplicillium lamellicol</i> 10 ⁷ 이상	분말	2.5 x 10 ⁷	<i>Simplicillium lamellicol</i> (100%)
4	D-4	<i>Bacillus subtilis</i> 10 ⁶ 이상	분말	1.9 x 10 ¹⁰	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
5	D-5	<i>Trichoderma harzianum</i>	액상	3.0 x 10 ⁷	<i>Trichoderma harzianum</i> (100%)
1	D-6	<i>Streptomyces griseofuscus</i>	액상	-	불검출
2	D-7	<i>Streptomyces griseus</i>	분말	3.8 x 10 ⁴	<i>Bacillus proteolyticus</i> (100%)
3	D-8	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	액상	1.2 x 10 ⁷	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (90%) <i>Pseudomonas moraviensis</i> (10%)
				1.0 x 10 ⁸	<i>Pseudomonas moraviensis</i> (80%) <i>Pseudomonas koreensis</i> (20%)
4	D-9	<i>Trichoderma atroviride</i>	분말	1.0 x 10 ⁷	<i>Trichoderma</i> spp. (100%)
5	D-10	<i>Bacillus subtilis</i>	액상	8.6 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
*	등록사항 일치 미생물제제			*	등록사항 불일치 미생물제제

○ 미생물 농약에 대한 효능평가 (in vitro)

- 미생물 농약의 in vitro 효능 평가는 항균능 평가로써 선정된 대상(고추, 배추, 토마토) 작물에 병을 일으키는 식물병원성균(무름병, 토마토 궤양병, 배추 썩음병, 배추 균핵병, 고추 탄저병, 토마토 시들음병)에 대한 효과 실험을 수행하였음

▶ 항균능 측정 방법

- 미생물 농약제품이 식물병원성 균에 대한 억제 효과 있는지 효능평가 실험을 수행하기 위해 병 억제능 실험을 식물병원성 균의 종류에 따라 나누어 수행하였으며 대표적인 항균능 실험방법인 paper disc method로 활용하여 저지대 측정법을 수행하였음 (그림 19)
- Petri Dish에 PDA 배지를 준비하고 배추 균핵병, 고추 탄저병, 토마토 시들음병, 토마토 잎 곰팡이 병원균을 직경 7mm로 펀치하여 PDA배지의 중앙에 치상하였음. 또한 선정된 D1~D10의 미생물 농약 제품을 회사에서 권장한 희석배율로 희석 한 뒤, 멸균된 직경 5mm 의 paper disc에 떨어뜨림. 25°C에서 7일간 배양한 뒤 암상태에서 형성된 저지대의 반경을 측정하여 수치를 산출하였음

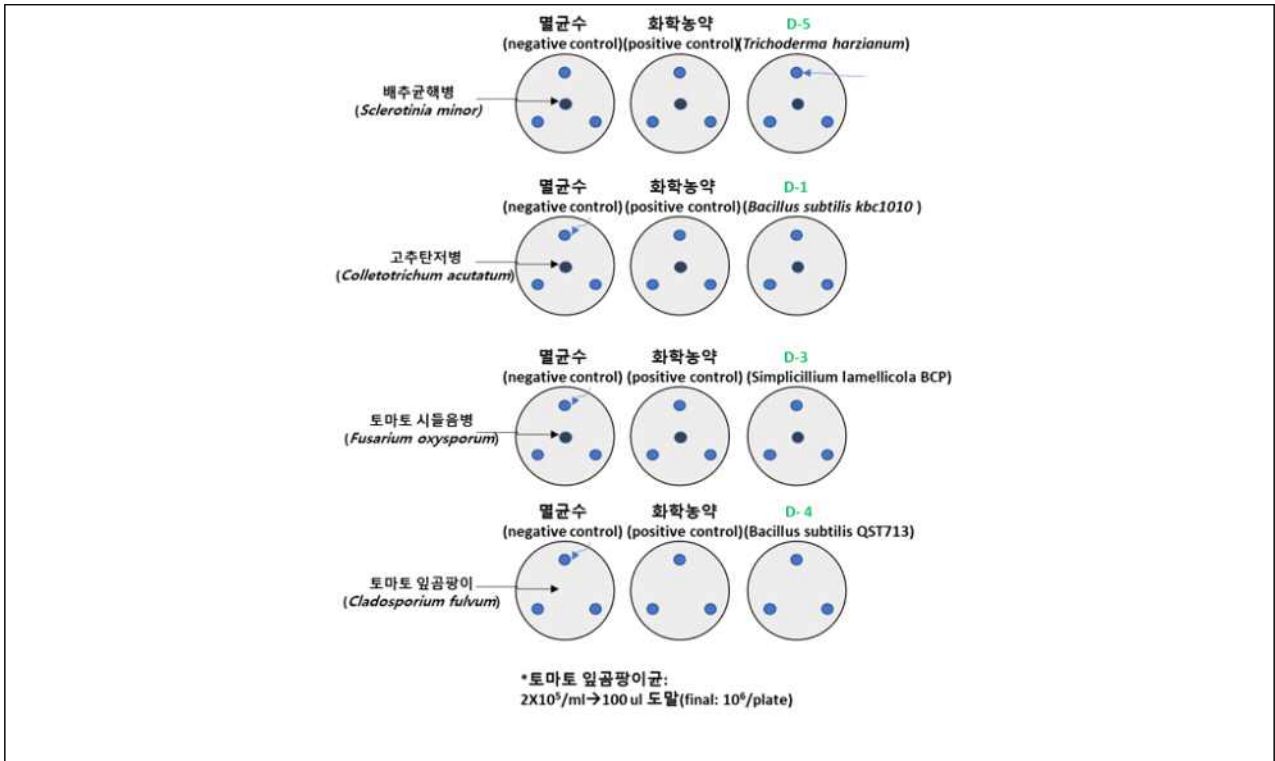


그림 19. 미생물 농약제품의 *In vitro* 항균능 실험 방법

▶ 항균능 측정 결과

- 미생물 농약 2개 제품에서 효과를 보였는데 D-4는 배추균핵병, D-5는 배추 썩음병에 대한 항균능을 확인하였음
- 미생물 농약 3개 제품(D-1, D-6, D-10)에서 고추 탄저병에 대한 항균능을 확인하였음
- 미생물 농약 2개 제품에서 효과를 보였으며 D-3은 토마토 시들음병, D-4는 토마토 잎 곰팡이 병에 대한 항균능을 확인하였음
- 결과적으로 미생물 농약 제품 10개 중에서 6개(D-1, D-3, D-4, D-5, D-6, D-10)은 식물병원성 균에 대한 항균능을 나타냄으로 작물에 적용 시 병 방제 효과를 기대할 수 있음 (그림 20)
- 이러한 결과는 본 미생물 농약의 *in vitro* 효능검증법이 항균능 검정에 적합함을 시사하며 작물 병 억제용 미생물제제의 지표로 사용할 수 있음 지시함



그림 20. 미생물 농약 제품의 식물병원성 진균에 대한 항균능 평가 결과

○ 미생물 농약에 대한 효능평가 (*in vivo*)

- 미생물 농약의 *in vivo* 효능 평가는 선정된 대상(고추, 배추, 토마토) 작물에 병을 일으키는 식물병원성 진균(고추 탄저병, 배추 균핵병, 고추 탄저병, 토마토 시들음병)에 대한 효과 실험을 수행하였음

▶ 미생물 농약의 고추 탄저병에 대한 고추 작물 *in vivo* 효능 측정

- 기주 식물로 사용할 고추는 ‘신청향고추’ 품종으로, 농약을 사용하지 않고 재배한 고추를 멸균 증류수로 헹구어 물기를 말려 사용하며, 미생물 농약을 권장농도로 희석하여 분무하였음
- 고추 탄저병 병원균은 포자 현탁액(2×10^5 spore/mL)을 고추 1개당 3지점에 분주하여 접종하고 밀폐용기에 멸균증류수를 넣어 상대 습도가 100%가 유지되는 chamber에서 10일간 배양 후 사진 촬영하였음 (그림 21)
- 사진 촬영 후 이미지J 프로그램을 이용하여 실험에 사용된 앞쪽 면의 전체 면적 대비 병반 면적율을 구해 효능 평가하였음
- 유의성 검정은 SPSS 프로그램을 이용하여 Negative control, Positive control과 더불어 화학제제 1개와 미생물 처리구를 비교 검정하였음

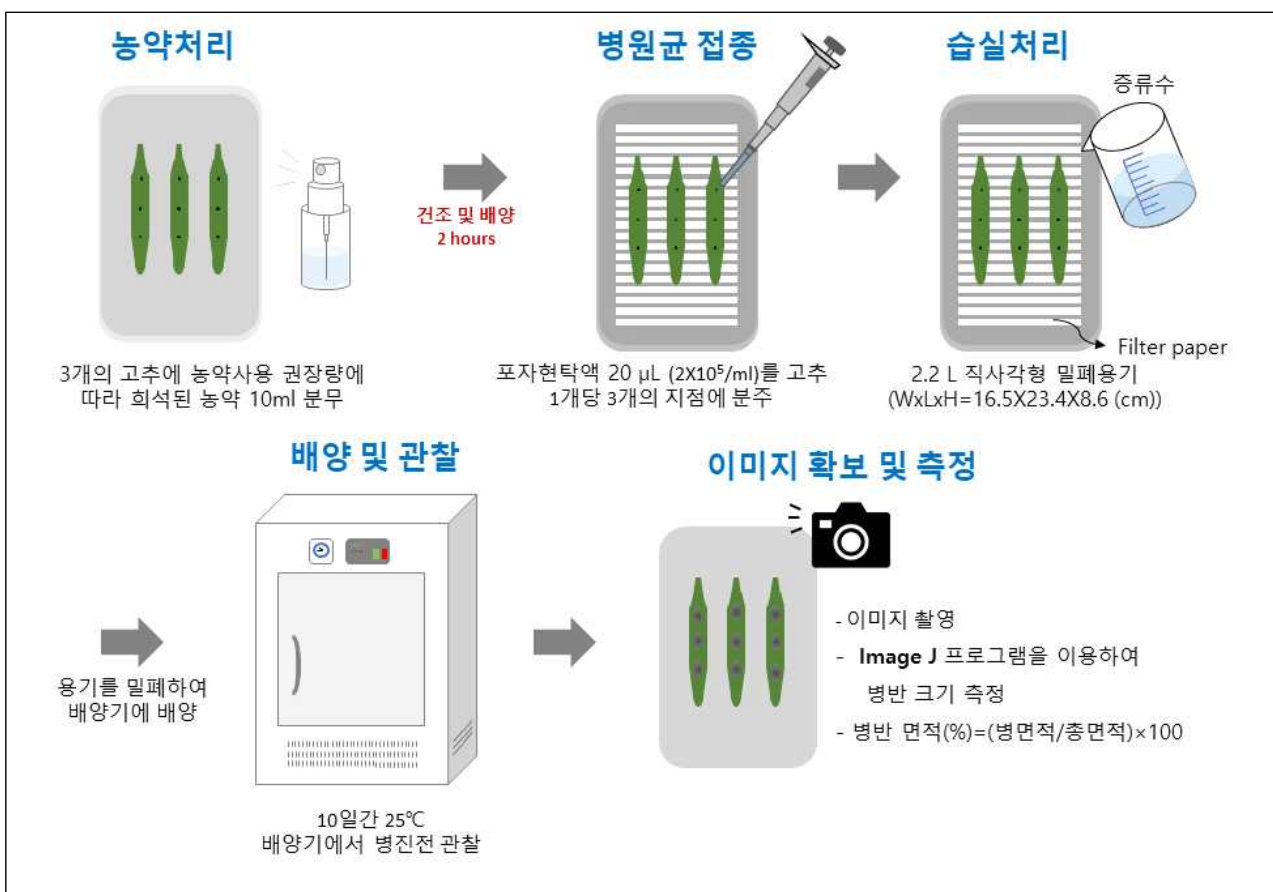


그림 21. 고추탄저병에 대한 고추작물 미생물 농약 효능 평가 실험 방법 개발 모식도

- 고추-고추탄저병을 이용한 미생물 농약 효능 검정법을 개발하여 미생물 농약 3제품(D-1, D-6, D-10)을 실험에 사용하였음
- 대조구로, 멸균증류수를 처리한 Mock, 고추탄저병원균을 처리한 접종구, 고추탄저병 방제에 가장 많이 사용되는 베노밀 화학농약 처리구(chemical, benomyl로 표기), 마지막으로 시스템이 제대로 작동하는지 살펴보기 위해 고추탄저병에 항균능을 보이는 미생물(미판매미생물)로 표기하여 실험에 적용하였음
- 그 결과, 미생물 농약 제품 D-6는 통계학적으로 유의한 수준으로 AB 그룹에 속하여 약간의 항균능을 가진 것으로 판단되었으나, 큰 효과가 없는 것으로 나타남
- 실험에 사용한 미생물 농약 제품 D-1과 D-10은 고추탄저병에 대한 항균효과가 없었음
- 반면에 미판매미생물은 베노밀과 유사한 수준으로 고추탄저병균에 대한 항균능을 보였음 (그림 22)

- 이상의 결과는 이번 연구에서 개발된 고추와 고추탄저병의 미생물 농약 효능 검정법이 항균능 검정에 적합함을 지시하며, 미생물 농약의 효과 검증을 위해서는 효능평가가 *in vitro* 및 *in vivo*로 함께 이루어져야 하며 그 결과 값은 작물에 따라 상이 할 수 있음을 확인하였음

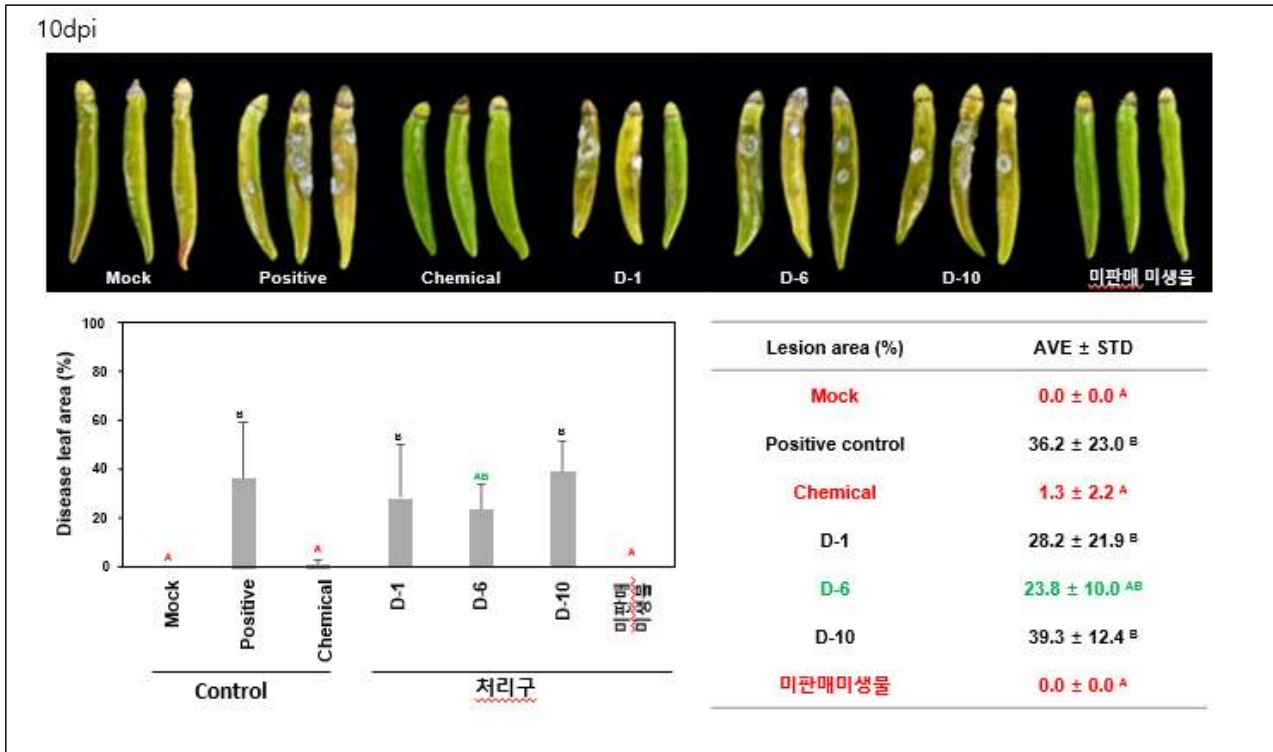


그림 22. 미생물 농약의 고추탄저병 항균능 검정 실험 결과, 그래프, 테이블

▶ 미생물 농약의 배추 균핵병에 대한 배추 작물 *in vivo* 효능 측정

- 기주 식물로 사용할 배추는 '황금배추' 품종으로, 배추 유묘는 원예용 상토에 파종하여 온실에서 14일간(2엽기) 육묘하였음
- 배추 균핵병은 병아리콩에 접종하여 2주간 배양하여 접종원으로 준비하고, 배추 균핵병이 토양전염성 병임으로 미생물 농약을 배추 유묘를 정식할 토양에 권장량만큼 처리하였음
- 미생물 농약이 처리된 토양에 배추유묘를 정식하고 배추 균핵병원균 접종원을 접종하여 토양 위로 검정색 비닐을 씌워 습도를 유지함. 병원균 접종 7일 후 실험 결과를 측정하였음(생중량 측정 및 이미지 촬영)
- 유의성 검정은 SPSS 프로그램을 이용하여 Negative control, Positive control과 더불어 화학제제 1개와 미생물 처리구를 비교 검정하였음 (그림 23)

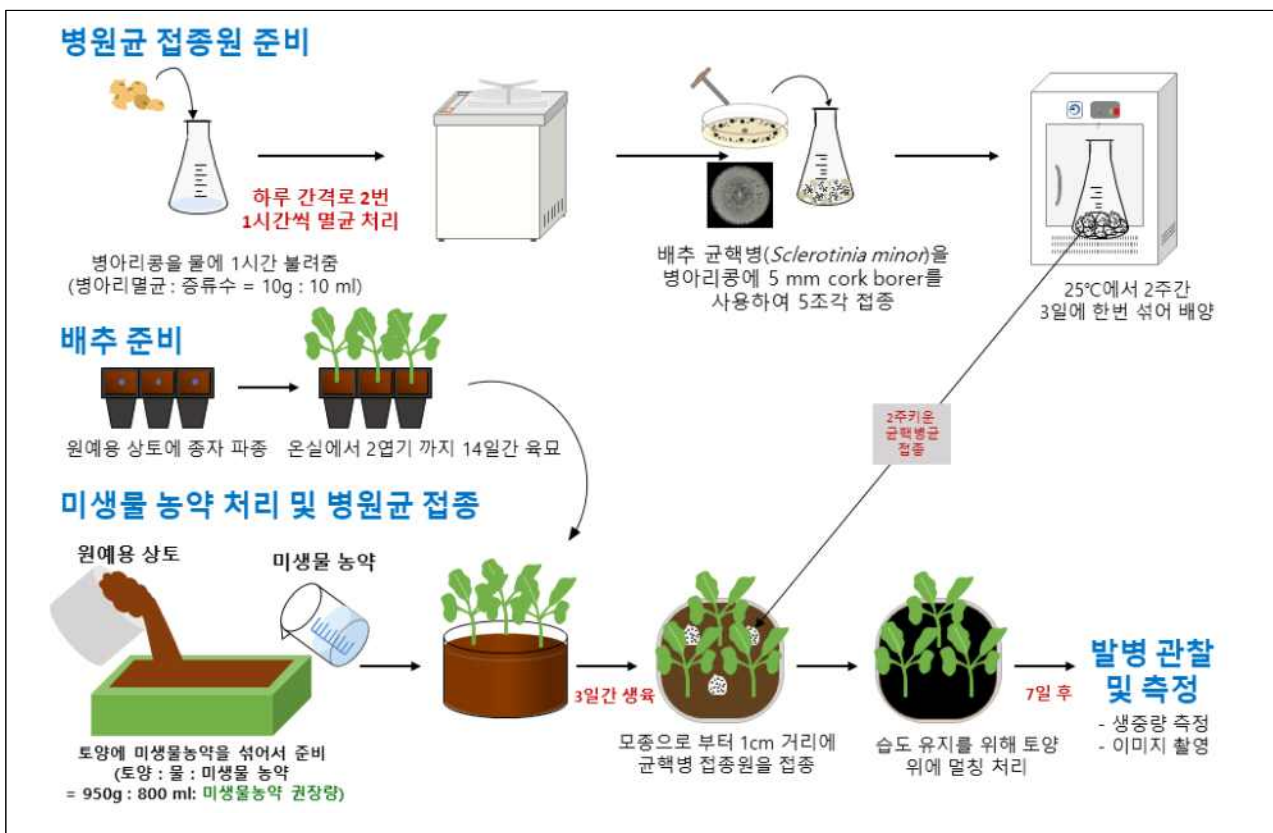


그림 23. 배추 균핵병에 대한 배추작물 미생물 농약 효능 평가 실험 방법 개발 모식도

- 배추-배추균핵병을 이용한 미생물 농약 효능 검정법을 개발하여 미생물 농약 1개 제품(D-5)을 실험에 사용함
- 대조구로 3가지를 실험에 적용하였는데, 멸균증류수를 떨어뜨린 Mock처리, 배추 균핵병을 처리한 접종구, 배추 균핵병 방제에 가장 많이 사용되는 화학농약(chemical로 표기)을 대조구로 적용함
- 그 결과, 미생물 농약을 처리하지 않고 배추 균핵병만을 접종한 Positive control은 배추가 균핵병에 감염되어 반복 3개의 개체가 완전히 죽음
- 이에 반하여 시중에 판매되는 농약(chemical)을 처리했을 때 병원균이 접종되었음에도 모든 개체가 negative control에 비해 더 잘 자람
- 미생물제제는 병원균이 접종되었음에도, 미생물 농약제품 D-5를 1배로 처리한 경우 1개체만 살아남았으며, 5배로 처리한 처리구에서 배추 2개체가 살아남아 배추균핵병에 대하여 항균능이 있는 것으로 나타남
- 또한 생중량 측정 시, 미생물 농약 제품 D-5를 5배 처리한 경우는 병원균에 감염된 상태임에도 불구하고 병원균을 접종하지 않은 무처리구와 동일한 생중량을 보임 (그림 24)
- 이상의 결과는 이번 연구에서 개발된 배추와 배추균핵병의 미생물 농약 효능 검정법이 항균능 검정에 적합함을 지시하며 미생물 농약의 *in vivo* 효능 평가 시 권장량 보다 높은 사용량이 필요할 가능성을 시사함

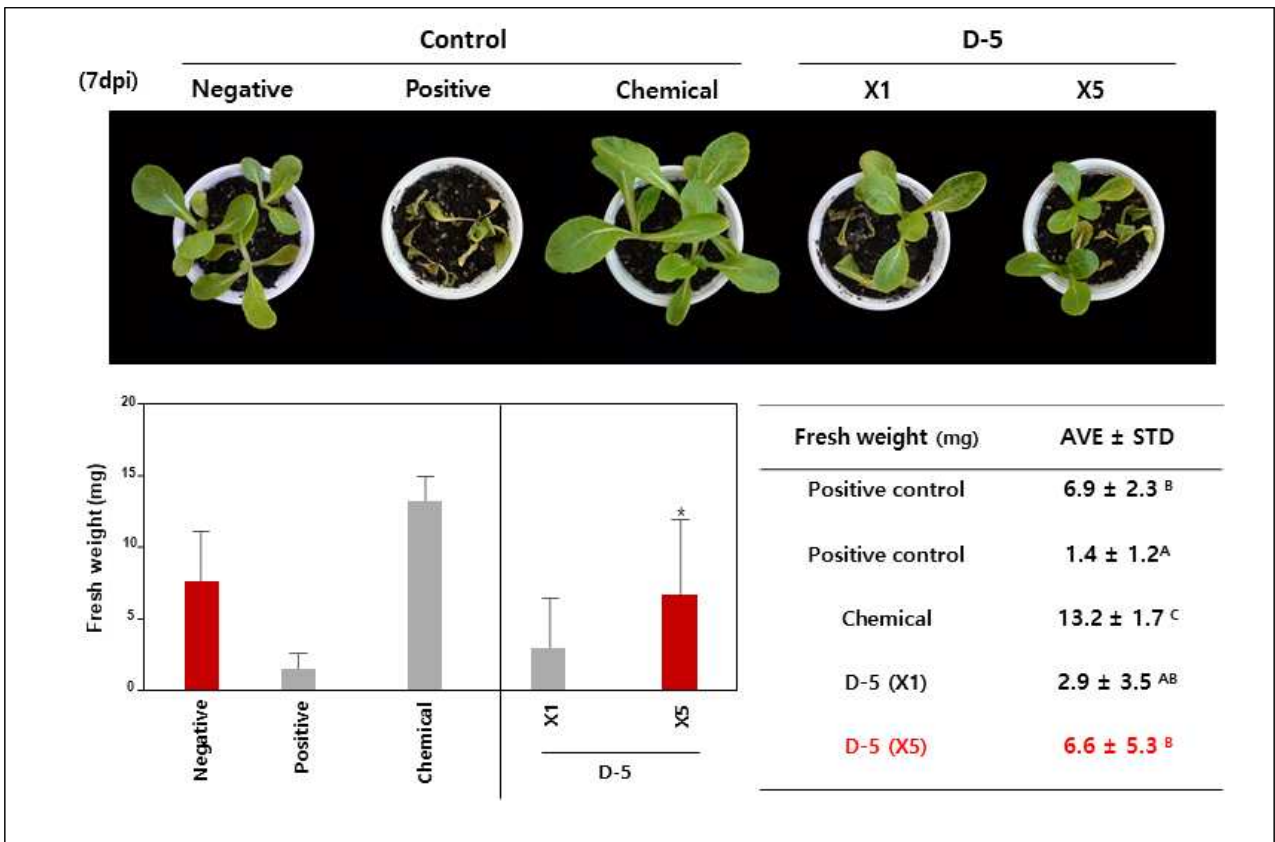


그림 24. 미생물 농약의 배추균핵병 항균능 검정 실험 결과, 그래프, 테이블

▶ 미생물 농약의 토마토 풋마름병에 대한 토마토 작물 *in vivo* 효능 측정

- 기주 식물로 사용할 토마토는 '선레드' 품종으로, 토마토 유묘는 원예용 상토에 파종하여 온실에서 10일간 육묘하였음
- 토마토 풋마름병은 병원균을 액체배양 후 원심분리하여 세포를 수거하고 10 mM MgCl₂를 이용하여 OD₆₀₀=1.8 (10⁸/ml)로 희석하여 준비하였음
- 미생물 농약이 처리된 토양에 토마토 유묘를 정식하여 3일간 생육시킨 뒤 토마토 유묘를 뿌리의 끝을 자르고 병원균 현탁액에 30분간 침지하여 다시 미생물 농약이 처리된 토양에 옮겨 심고 병원균 접종 2주 후 실험 결과를 측정하였음(생중량 측정 및 이미지 촬영)
- 유의성 검정은 SPSS 프로그램을 이용하여 Negative control, Positive control과 더불어 화학제제 1개와 미생물 처리구를 비교 검정하였음 (그림 25)

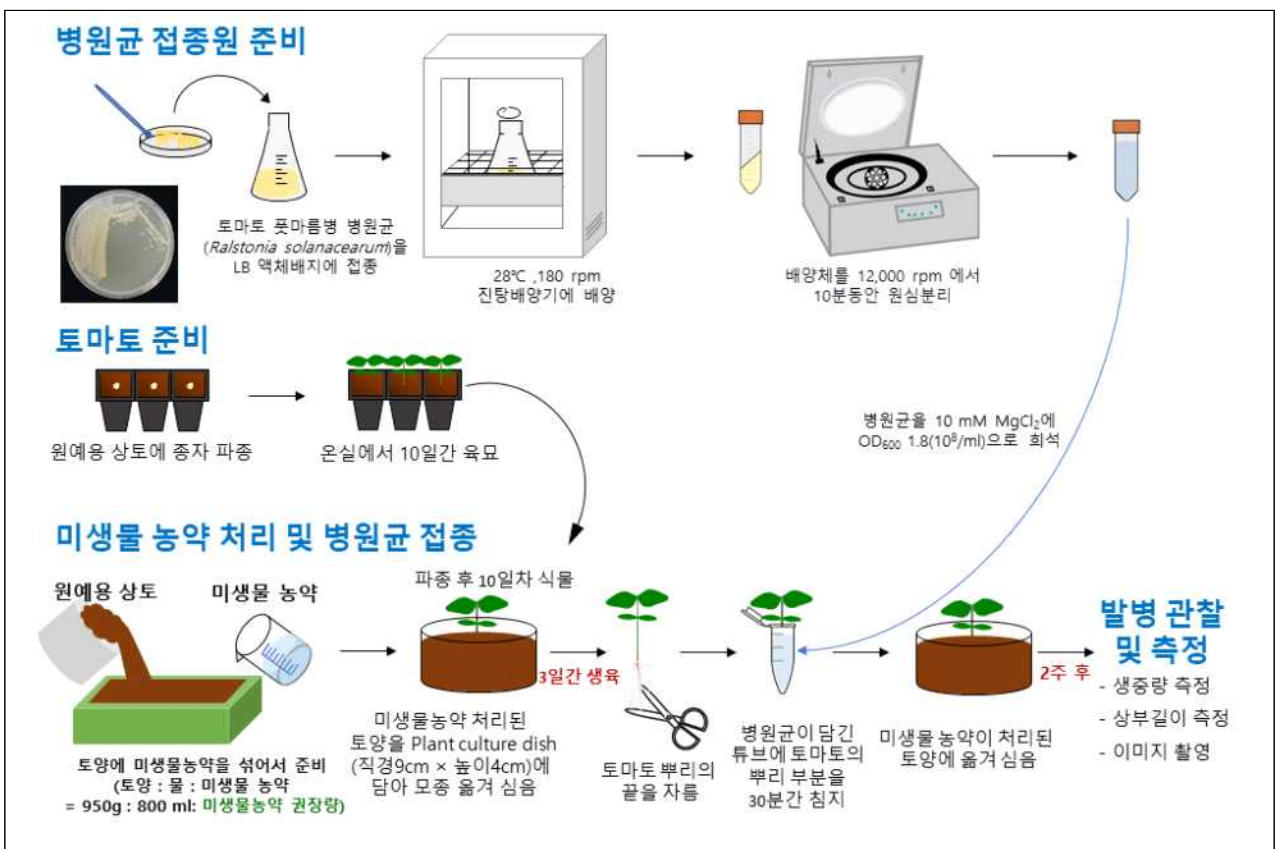


그림25. 토마토풋마름병에 대한 토마토 작물 미생물 농약 효능 평가 실험 방법 개발 모식도

- 토마토-토마토풋마름병을 이용한 미생물 농약 효능 검정법을 개발하여 미생물 농약 5개 제품 (D-1, D-3, D-7, D-8, D-9)을 실험에 사용하였음
- 대조구로 3가지를 실험에 적용하였는데, 멸균증류수를 토마토 식물에 처리한 Mock처리, 토마토 풋마름병 *R. solanacearum*을 처리한 접종구(Positive control), 풋마름병 방제에 가장 많이 사용되는 화학농약(chemical로 표기)을 대조구로 적용하였음
- 그 결과 미생물 농약을 처리하지 않고 토마토풋마름병만을 접종한 접종구(Positive control)은 토마토가 풋마름병에 감염되어 반복 3개의 개체의 생장이 억제되었음
- 이에 반하여 시중에 판매되는 농약(chemical)을 처리했을 때는 병원균이 접종되었음에도 모든 개체가 병에 감염되지 않음
- 미생물 농약제품 3개(D-1(X1, X5), D-3(X1), D-9(1X))는 모두 토마토 풋마름병징을 나타내지 않음
- 미생물 농약 제품 중 D-1(X5), D-8(X1), D-9(X1)는 병원균이 접종되었음에도 생중량이 유의한 수준에서 증가하였으며, 특히 D-1(X5)와 D-9(X1)의 경우는 유의한 수준으로 크기도 증가하여, 전체적인 생육도 증가하는 PGPR효과가 있는 것으로 보임
- 이상의 결과는 이번 연구에서 개발된 토마토와 토마토 풋마름병의 미생물 농약 효능 검정법이 항균능

검정에 적합함을 지시함.

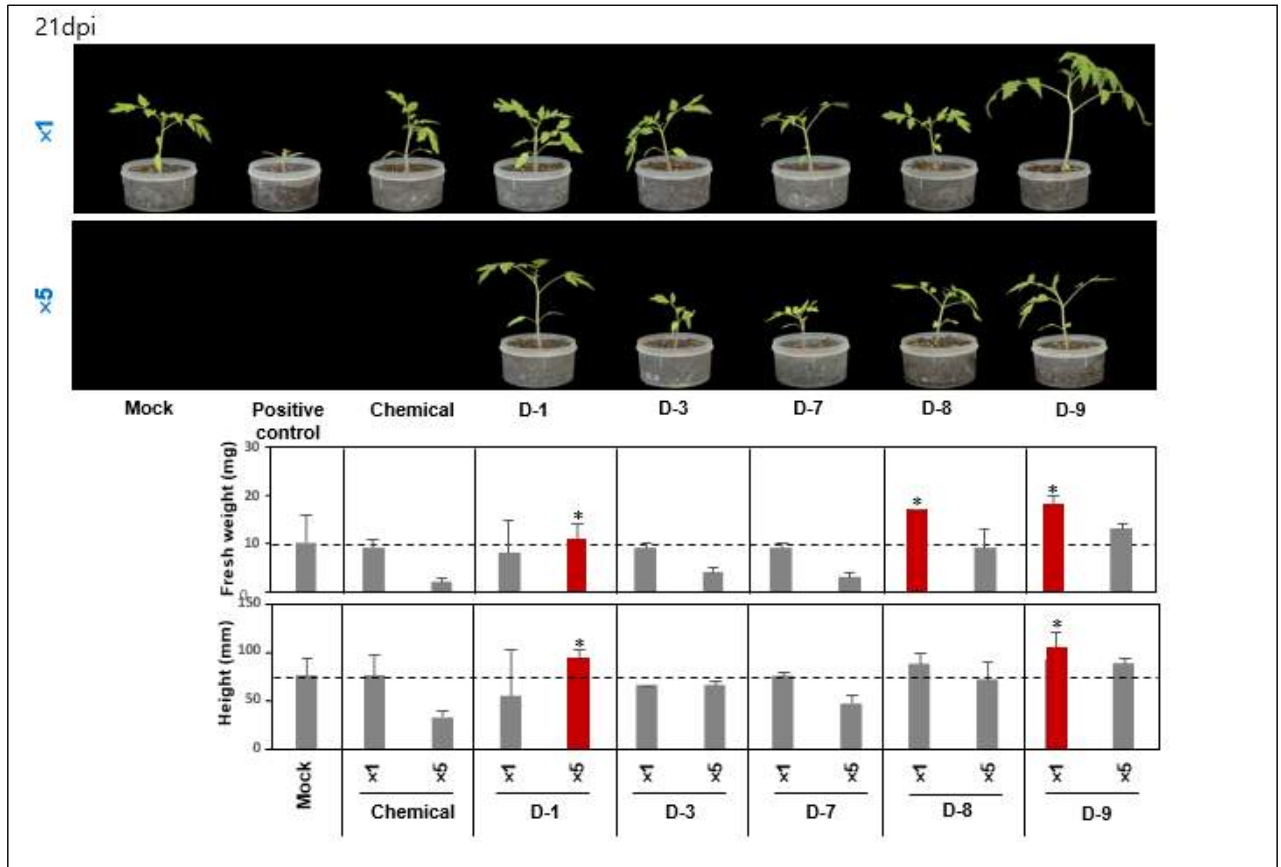


그림 26. 미생물 농약의 토마토 풋마름병 항균능 검정 실험 결과, 그래프, 테이블

▶ 미생물 농약의 작물 적용을 위한 효과 분석 종합 의견

- 미생물 농약제품 10개에 대한 품질평가 결과 등록사항과 일치하는 제품은 6개 (D-1, D-3, D-4, D-5, D-9, D-10)로 평가되었으며, 미생물 농약 제품 10개에 대한 효능평가(*in vitro*) 결과, 항균능을 나타낸 제품은 5개(D-1, D-4, D-5, D-6, D-10)로 식물병원성 균에 대한 항균능을 확인하였음
- 고추, 배추, 토마토를 이용한 작물별 *in vivo* 효능평가 결과, 고추에서는 미생물 농약 제품 D-6가 약간의 항균능을 가진 것 보이나 효과가 미비하며, 배추에서는 처리한 미생물 농약 제품 D-5를 권장량보다 5배 높게 처리 시 항균능 및 생중량 효과를 보였고 미생물 농약제품 D-1(X5), D-8(X1), D-9(X1)을 토마토에 처리한 결과 생중량 증가를 보여 현재 적용된 작물별 평가 절차에 의거하여 제품별 효능 차이를 확인할 수 있었음
- 이러한 결과는 미생물 농약의 특성상 작물에 대한 병 방제 효과를 검증하기 위하여 다양한 작물 병해를 대상으로 효능평가를 수행하는 것이 적합하며, 제품별로 권장량이 상이함을 시사함
- 최종적으로 미생물 농약 제품의 효과분석 및 권장 적용량 등의 기준안 마련을 위해 제품의 품질평가 및 작물별 효능평가(*in vitro*, *in vivo*)를 도입하는 방안을 제안함

(1-4) 사료첨가용 미생물제제 효과분석 표준모델 수립

□ 미생물 사료

○ 미생물 사료 선정 및 특성

- 미생물 사료는 원활한 제품의 확보를 위해 나라장터종합쇼핑몰에 등록되어 있는 제품으로 고려하였음
- 양돈·양계에 적용하는 미생물제제의 효능검증을 수행하고자 하였음
- 제품의 표기는 'Animal'의 약자인 'A'로 명명하였고, 1번부터 30번까지 제품의 순서를 나열하였음 (표 13)

표 13. 미생물 사료 선정제품 및 특성

제품명	등록군주	생균수	<i>in vivo</i> 효능평가 시 사용량
A-1	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	0.1% / 0.5%
A-2	<i>Bacillus subtilis, Saccharomyces cerevisiae, Enterococcus faecium</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.1% / 0.5%
A-3	<i>Bacillus subtilis, Clostridium butyricum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.1% / 0.5%
A-4	<i>Bacillus subtilis, Saccharomyces cerevisiae,</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	0.1% / 0.5%
A-5	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	0.1% / 0.5%
A-6	<i>Bacillus subtilis, Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.1%
A-7	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	0.1%
A-8	<i>Bacillus subtilis, Pichia parinosa</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	0.1%
A-9	<i>Lactobacillus brevis, Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.1%
A-10	<i>Lactobacillus casei,</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.1%
A-11	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	0.1%
A-12	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.1%
A-13	<i>Bacillus subtilis, Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁹ cfu/g 이상	0.1%
A-14	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.1%
A-15	<i>Bacillus licheniformis</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g 이상	0.1%
A-16	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g 이상	0.1%
A-17	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.1%
A-18	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.1*10 ⁷ cfu/g 이상	0.5%
A-19	<i>Bacillus polyfermenticus Bacillus licheniformis</i>	3.0*10 ⁸ cfu/g 이상 3.1*10 ⁸ cfu/g 이상	0.5%
A-20	<i>Bacillus subtilis Lactobacillus acidophilus</i>	2.0*10 ⁷ cfu/g 이상 2.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.5%
A-21	<i>Bacillus subtilis</i>	2.0*10 ⁷ cfu/g 이상	0.5%
A-22	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	0.5%
A-23	<i>Bacillus subtilis Lactobacillus plantarum</i> 효모배양물	1.0*10 ¹⁰ cfu/g 이상 1.0*10 ⁹ cfu/g 이상 1.0*10 ⁹ cfu/g 이상	-
A-24	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	-
A-25	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	-

A-26	<i>Bacillus licheniformis</i>	1.0*10 ⁹ cfu/g 이상	-
A-27	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	-
A-28	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g 이상	-
A-29	<i>Bacillus</i> sp. <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Saccharomyces</i> sp.	1.0*10 ⁹ cfu/g 이상 1.0*10 ⁹ cfu/g 이상 1.0*10 ⁹ cfu/g 이상	-
A-30	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g 이상	-

○ 미생물 사료 품질평가

- 총 균수 측정을 위해 등록 성분별 미생물의 적정배지와 온도에서 배양 후 총 균수를 측정하고 단일 colony를 확보하여 16S rRNA 유전자 분석을 수행하였음
- 상용되고 있는 축산용미생물제제 중에서 사료첨가제 21개, 환경개선제 및 분뇨처리제 9개를 확보하여 총 30개의 미생물 사료에 대한 성분등록 균주확인 및 품질평가를 수행하였음
- 등록사항과 일치하는 미생물 함유 제품은 22개(A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-7, A-10, A-11, A-12, A-13, A-17, A-18, A-19, A-20, A-21, A-22, A-23, A-24, A-25, A-26, A-28, A-29, A-30)로써 초록색으로 표기하였으며, 등록사항의 일부 미생물만 함유된 제품이 3개(A-6, A-9, A-19)로 붉은색으로 표기하였음. 또한 등록사항 외 미생물이 함유된 제품이 5개(A-8, A-14, A-15, A-16, A-27)로 확인되었음 (표 14)

표 14. 미생물 사료 품질평가

제품명	등록사항		측정결과		
	등록균주	생균수	형태	총 균수측정 (cfu/g)	미생물 동정(우점균) 측정
A-1	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	분말	4.3 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-2	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	분말	1.4 x 10 ⁹ , 1.8 x 10 ⁹ , 1.9 x 10 ⁹	<i>Bacillus subtilis</i> (100%), <i>Enterococcus faecium</i> (100%), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (80%), <i>Kluyveromyces marxianus</i> (20%)
A-3	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Clostridium butyricum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	분말	6.3 x 10 ⁶ , 4.4 x 10 ⁶	<i>Bacillus subtilis</i> (100%), <i>Clostridium butyricum</i> (50%) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (50%)
A-4	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	분말	1.7 x 10 ⁷ , 1.6 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (100%)
A-5	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	분말	2.1 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-6	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	분말	2.0 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-7	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	분말	8.8 x 10 ⁷	<i>Lactobacillus plantarum</i> (70%) <i>Lactobacillus fermentum</i> (30%)
A-8	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pichia parinosa</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	분말	1.3 x 10 ⁹ , 1.7 x 10 ¹⁰	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (50%) <i>Staphylococcus sciuri</i> (50%) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (100%)
A-9	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	분말	7.3 x 10 ⁶	<i>Lactobacillus plantarum</i> (100%)
A-10	<i>Lactobacillus casei</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	액상	1.2 x 10 ⁸	<i>Lactobacillus casei</i> (70%), <i>Lactobacillus zeae</i> (30%)
A-11	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g 이상	액상	1.5 x 10 ⁹	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-12	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	액상	9.3 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-13	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁹ cfu/g 이상	액상	2.3 x 10 ⁹ , 3.9 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%), <i>Lactobacillus plantarum</i> (100%)
A-14	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	액상	7.3 x 10 ⁸	<i>Lactobacillus paracasei</i> (100%)

A-15	<i>Bacillus licheniformis</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g 이상	액상	2.0 x 10 ¹⁰	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-16	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g 이상	액상	9.7 x 10 ⁷	확인 안됨
A-17	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g 이상	액상	7.0 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-18	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.1*10 ⁷ cfu/g	분말	6.52 x 10 ⁹	<i>Lactobacillus plantarum</i> (100%)
A-19	<i>Bacillus polyfermenticus</i> <i>Bacillus licheniformis</i>	3.0*10 ⁸ cfu/g, 3.1*10 ⁸ cfu/g	분말	4.0 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
				4.0 x 10 ⁸	<i>Bacillus licheniformis</i> (70%) <i>Bacillus subtilis</i> (30%)
A-20	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>	2.0*10 ⁷ cfu/g, 2.0*10 ⁶ cfu/g	분말	1.2 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
				1.8 x 10 ⁴	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (100%)
A-21	<i>Bacillus subtilis</i>	2.0*10 ⁷ cfu/g	액상	6.3 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-22	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g	분말	3.9 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
A-23	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> 효모배양물	1.0*10 ¹⁰ cfu/g, 1.0*10 ⁹ cfu/g, 1.0*10 ⁹ cfu/g	분말	5.0 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
				6.3 x 10 ⁴	<i>Lactobacillus plantarum</i> (100%)
				4.2 x 10 ⁷	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (100%)
A-24	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁷ cfu/g	분말	2.2 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
				2.0 x 10 ⁷	<i>Lactobacillus plantarum</i> (100%)
				1.3 x 10 ⁹	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (100%)
A-25	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g	분말	4.2 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
				3.7 x 10 ³	<i>Pichia kudriavzevii</i> (40%) <i>Rhodotorula</i> sp. (50%) <i>Candida glabrata</i> (10%)
A-26	<i>Bacillus licheniformis</i>	1.0*10 ⁹ cfu/g	분말	2.4 x 10 ⁹	<i>Bacillus licheniformis</i> (100%)
				1.2 x 10 ⁸	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (100%)
A-27	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁶ cfu/g	분말	5.3 x 10 ⁷	<i>Pichia kudriavzevii</i> (30%) <i>Staphylococcus condimentii</i> (30%) <i>Staphylococcus gallinarum</i> (20%) <i>Staphylococcus piscifermentans</i> (10%) <i>Weissella paramesenteroides</i> (10%)
				1.4 x 10 ⁹	<i>Weissella paramesenteroides</i> (100%)
				1.3 x 10 ⁸	<i>Pichia sorbitophila</i> (90%) <i>Millerozyma farinosa</i> (90%)
A-28	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g	분말	6.5 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
				2.3 x 10 ⁸	<i>Lactobacillus plantarum</i> (80%) <i>Pediococcus acidilactici</i> (10%) <i>Bacillus subtilis</i> (10%)
				1.7 x 10 ⁶	<i>Pichia kudriavzevii</i> (50%) <i>Millerozyma farinosa</i> (30%)
A-29	<i>Bacillus</i> sp. <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Saccharomyces</i> sp.	1.0*10 ⁹ cfu/g 1.0*10 ⁹ cfu/g, 1.0*10 ⁹ cfu/g	분말	4.2 x 10 ⁷	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
				4.3 x 10 ⁷	<i>Lactobacillus plantarum</i> (100%)
				1.4 x 10 ⁸	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (100%)
A-30	<i>Bacillus subtilis</i>	1.0*10 ⁸ cfu/g	분말	4.5 x 10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (100%)
				9.7 x 10 ⁶	<i>Lactobacillus plantarum</i> (100%)
				3.3 x 10 ⁸	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (100%)

*		등록사항 일치 미생물제제	*		등록사항 불일치 미생물제제
---	--	---------------	---	--	----------------

○ 미생물 사료 효능평가(*in vitro*)

- 시중에서 판매되는 대부분의 미생물 사료는 복합미생물 제품으로 되어있어 제품 내의 복합미생물을 단일 균으로 분리하여 효능평가를 수행하였음

▶ 내열성 및 장내 생존능(내산성, 내담즙성) 검증

- 내열성 측정은 샘플을 미생물별 적정온도와 열처리 온도인 70℃에서 각각 5분씩 반응한 후 미생물별 적정배지에 도말하여 생균수 측정하였음
- 장내 생존능 평가중 내산성 측정은 샘플을 0.05M Sodium phosphate buffer pH 7.0과 pH 2.5에 각각 접종한 후 미생물별 적정온도에서 2시간 처리 후 미생물별 적정배지에 도말하여 생균수 측정하였고, 내담즙성 측정은 샘플을 0.3% Oxgall 첨가 배지에 접종한 후 미생물별 적정온도에서 8시간 처리 후 미생물별 적정배지에 도말하여 생균수 측정하였음
- 미생물 사료의 내열성 측정 결과 생존율은 최소 0% ~ 최대 100%를 나타냈고, 생존율 60%이상인 제품은 14개(A-2, A-4, A-5, A-6, A-8, A-9, A-10, A-13, A-22, A-23, A-24, A-25, A-26, A-29)로 확인됨
- 미생물 사료의 장내 생존능 측정 중 내산성 생존율은 최소 0% ~ 최대 100%를 나타냈고 생존율 60%이상인 제품은 12개(A-2, A-3, A-4, A-6, A-7, A-8, A-9, A-18, A-20, A-23, A-26, A-29)로 확인됨
- 미생물 사료의 장내 생존능 측정 중 내담즙성 생존율 역시 최소 0% ~ 최대 100%를 나타냈고 생존율 60%이상인 제품은 17개(A-2, A-3, A-4, A-6, A-7, A-8, A-9, A-18, A-19, A-20, A-21, A-22, A-23, A-25, A-26, A-29, A-30)로 확인됨 (표 15)
- 미생물 사료제품의 내열성 및 장내 생존능(내산성, 내담즙성) 평가는 무처리구에 비해 유의적인 결과를 확인 할 수 있었으며, 생존율 60%를 기준으로 내열성, 내산성, 내담즙성이 공통적으로 확보된 제품은 8개(A-2, A-4, A-6, A-8, A-9, A-23, A-26, A-29)였음.
- 해당 지표들은 장내 생존과 밀접한 관계가 있어 사료첨가제로 적용 시 동물의 장내 건강과 연관성이 있을 것으로 판단되며, 제품 생산 시 열에 의한 안정성이 보완되는 결과로 사료됨

표 15. 미생물 사료의 내열성 및 장내 생존능(내산성, 내담즙성) 결과

No.	제품명	구분	내열성 (%)	내산성 (%)	내담즙성 (%)
1	A-1	<i>Bacillus</i> spp.	47	40	54
2	A-2	<i>Bacillus</i> spp.	0	0	26
		<i>Lactobacillus</i> spp.	93	90	97
		<i>Saccharomyces</i> spp.	22	98	97
3	A-3	<i>Bacillus</i> spp.	0	0	0
		<i>Clostridium</i> spp.	44	99	100
4	A-4	<i>Bacillus</i> spp.	69	32	-
		<i>Saccharomyces</i> spp.	0	98	93
5	A-5	<i>Bacillus</i> spp.	66	0	33
6	A-6	<i>Bacillus</i> spp.	90	73	91
		<i>Lactobacillus</i> spp.	-	-	-
7	A-7	<i>Lactobacillus</i> spp.	57	99	85
8	A-8	<i>Bacillus</i> spp.	77	63	73
		<i>Pichia</i> spp.	-	-	-
9	A-9	<i>Lactobacillus</i> spp.	63	96	90
10	A-10	<i>Lactobacillus</i> spp.	91	-	-

11	A-11	<i>Bacillus</i> spp.	0	-	-
12	A-12	<i>Bacillus</i> spp.	39	-	-
13	A-13	<i>Bacillus</i> spp.	25	-	-
		<i>Lactobacillus</i> spp.	86		
14	A-14	<i>Lactobacillus</i> spp.	0	-	-
15	A-15	<i>Bacillus</i> spp.	36	-	-
16	A-16	<i>Bacillus</i> spp.	-	-	-
17	A-17	<i>Bacillus</i> spp.	0	-	-
18	A-18	<i>Lactobacillus</i> spp.	<20	97	98
19	A-19	<i>Bacillus</i> spp.	57	<20	65
20	A-20	<i>Bacillus</i> spp.	<20	43	95
		<i>Lactobacillus</i> spp.	56	96	97
21	A-21	<i>Bacillus</i> spp.	<20	44	94
22	A-22	<i>Bacillus</i> spp.	67	58	100
23	A-23	<i>Bacillus</i> spp.	67	24	48
		<i>Lactobacillus</i> spp.	<20	96	96
		<i>Saccharomyces</i> spp.	0	100	100
24	A-24	<i>Bacillus</i> spp.	71	21	57
25	A-25	<i>Bacillus</i> spp.	100	34	100
26	A-26	<i>Bacillus</i> spp.	100	73	100
27	A-27	<i>Bacillus</i> spp.	-	-	-
28	A-28	<i>Lactobacillus</i> spp.	-	-	-
29	A-29	<i>Bacillus</i> spp.	92	<20	100
		<i>Lactobacillus</i> spp.	<20	86	99
		<i>Saccharomyces</i> spp.	-	-	-
30	A-30	<i>Bacillus</i> spp.	32	<20	60
생존율 60% 이상					

*Bold: $p > 0.05$

▶ 장내 정착능 검증

- 미생물 사료의 미생물 샘플(미생물 1×10^7 CFU/mL 기준)을 HT-29 cell line에 부착한 후 37 °C의 CO₂ 배양기에서 2시간 배양하여 적정배지에 도말 및 생균수 측정하였음
- 미생물 사료의 장내 정착능 결과는 최소 0% ~ 최대 91.5%를 나타냈고 장내 정착능이 60%이상인 제품은 17개(A-1, A-2, A-3, A-5, A-6, A-7, A-8, A-11, A-12, A-13, A-14, A-15, A-20, A-22, A-23, A-24, A-25, A-29)로 확인됨
- 복합미생물 제품 내 모든 등록 균주의 장부착능이 60% 이상인 제품은 3개(A-8, A-13, A-23)로 확인됨 (표 16)
- 미생물 사료의 장내 정착능 평가는 무처리구에 비해 유의적인 결과를 확인 할 수 있었으며, 해당 지표는 장내 미생물 정착과 밀접한 관계가 있어 사료첨가제로 적용 시 동물의 장내 건강과 연관성이 있을 것으로 판단됨

표 16. 미생물 사료의 장내 정착능 결과

No.	샘플명	비고	무처리	HT-29 cell 부착	HT-29 cell부착 / 무처리 *100
-----	-----	----	-----	---------------	----------------------------

1	A-1	<i>Bacillus</i> sp.	7.03 ± 0.09	4.00 ± 0.23	56.9 %
		<i>Lactobacillus</i> spp.	8.31 ± 0.06	6.36 ± 0.06	76.51 %
		<i>Saccharomyces</i> spp.	6.49 ± 0.06	5.30 ± 0.18	81.75 %
2	A-2	<i>Bacillus</i> sp.	7.05 ± 0.09	4.77 ± 0.25	67.7 %
3	A-3	<i>Bacillus</i> spp.	4.26 ± 0.24	3.74 ± 0.38	87.8 %
		<i>Clostridium</i> spp.	5.39 ± 0.38	3.00 ± 0.24	55.6 %
4	A-4	<i>Bacillus</i> sp.	5.49 ± 0.08	2.28 ± 0.79	41.6 %
5	A-5	<i>Bacillus</i> spp.	8.12 ± 0.06	5.06 ± 0.15	62.3 %
6	A-6	<i>Bacillus</i> sp.	8.31 ± 0.07	6.77 ± 0.06	81.5 %
7	A-7	<i>Lactobacillus</i> spp.	7.81 ± 0.03	6.29 ± 0.09	80.5 %
8	A-8	<i>Bacillus</i> spp.	7.65 ± 0.05	5.06 ± 0.24	66.2 %
		<i>Pichia</i> spp.	6.43 ± 0.21	5.08 ± 0.12	79.0 %
9	A-9	<i>Lactobacillus</i> spp.	-	-	-
10	A-10	<i>Lactobacillus</i> spp.	8.19 ± 0.04	6.41 ± 0.06	78.3 %
11	A-11	<i>Bacillus</i> spp.	4.46 ± 0.15	4.08 ± 0.26	91.5 %
12	A-12	<i>Bacillus</i> spp.	5.48 ± 0.48	3.46 ± 0.07	63.2 %
13	A-13	<i>Bacillus</i> spp.	5.73 ± 0.03	5.06 ± 0.11	88.2 %
		<i>Lactobacillus</i> spp.	8.53 ± 0.02	7.18 ± 0.05	84.1 %
14	A-14	<i>Lactobacillus</i> spp.	7.62 ± 0.06	6.45 ± 0.01	84.6 %
15	A-15	<i>Bacillus</i> sp.	5.49 ± 0.00	3.75 ± 0.42	69.3 %
16	A-16	<i>Bacillus</i> spp.	-	-	-
17	A-17	<i>Bacillus</i> spp.	8.35 ± 0.12	3.16 ± 0.11	37.8 %
18	A-18	<i>Lactobacillus</i> spp.	7.79 ± 0.03	6.36 ± 0.07	81.7 %
19	A-19	<i>Bacillus</i> spp.	5.83 ± 0.06	3.21 ± 0.16	55.1 %
20	A-20	<i>Bacillus</i> spp.	7.52 ± 0.08	4.19 ± 0.24	55.7 %
		<i>Lactobacillus</i> spp.	7.75 ± 0.04	6.50 ± 0.06	83.9 %
21	A-21	<i>Bacillus</i> spp.	7.34 ± 0.11	4.25 ± 0.24	57.9 %
22	A-22	<i>Bacillus</i> spp.	6.90 ± 0.09	4.37 ± 0.09	63.4 %
23	A-23	<i>Bacillus</i> spp.	5.05 ± 0.23	3.34 ± 0.32	66.2 %
		<i>Lactobacillus</i> spp.	8.24 ± 0.03	6.65 ± 0.03	80.7 %
		<i>Saccharomyces</i> spp.	6.55 ± 0.09	5.31 ± 0.06	81.2 %
24	A-24	<i>Bacillus</i> spp.	5.68 ± 0.14	3.60 ± 0.06	63.4 %
25	A-25	<i>Bacillus</i> spp.	6.49 ± 0.12	4.35 ± 0.24	66.9 %
26	A-26	<i>Bacillus</i> spp.	7.04 ± 0.03	3.21 ± 0.23	45.6 %
27	A-27	<i>Bacillus</i> spp.	-	-	-
28	A-28	<i>Lactobacillus</i> spp.	-	-	-
29	A-29	<i>Bacillus</i> spp.	4.03 ± 0.13	0.0 ± 0.0	0.0 %
		<i>Lactobacillus</i> spp.	7.63 ± 0.06	5.48 ± 0.13	71.9 %
		<i>Saccharomyces</i> spp.	-	-	-
30	A-30	<i>Bacillus</i> spp.	7.15 ± 0.08	4.24 ± 0.17	59.3 %
생존율 60% 이상					

*Bold: $p > 0.05$

▶ 항생제 내성 평가

- 미생물 제품에 대하여 유럽의 경우 EFSA(European Food Safety Authority)에서 항생제 내성 최저 농도를 제안하고 있어 향후 국내 미생물 사료첨가 제품의 안정성 확보 및 제품 수출에 필요한 지표로서 항생제 내성을 평가함
- 미생물 사료 제품에서 분리한 미생물 샘플 100 μ l를 적정배지에 각각 도말한 후 (1-2x 10⁶ CFU/mL), E-test strip을 항생제 종류별로 올려놓음. 적정온도에서 1일간 배양 후 MIC(Minimal inhibition concentraion/최소 저해 농도)를 측정하였음
- 축산분야에서 주로 사용되는 6종의 항생제에 대하여 MIC 기준으로 분석하였을 때 Ampicillin 저항성을 나타낸 제품 3개(A-2, A-4, A-14), Gentamicin 저항성을 나타낸 제품 3개(A-2, A-4, A-14), Kanamycin 저항성을 나타낸 제품 10개(A-2, A-4, A-7, A-9, A-10, A-13, A-14, A-18, A-20, A-23), Tetracycline 저항성을 나타낸 제품 4개(A-2, A-4, A-14, A-18), Amoxicillin/Clavulanic 저항성을 나타낸 제품 4개(A-2, A-4, A-14, A-23), Trimethoprim/sulfamethoxazole 저항성을 나타낸 제품 7개(A-2, A-4, A-9, A-10, A-14, A-18, A-20)로 확인됨 (표 17)

표 17. 미생물 사료에 대한 항생제 내성 평가 결과

No.	샘플명	Minimal inhibition concentration (MIC, μ g/mL)					
		Ampicillin (AM)	Gentamicin (GM)	Kanamycin (KM)	Tetracycline (TC)	Amoxicillin/Clavulanic acid (XL)	Trimethoprim/sulfamethoxazole (TS)
1	A-1	0.38	0.064	0.25	1.5	0.25	0.047
2	A-2	0.094	0.094	0.25	1	0.125	0.047
		R**	R**	R**	R**	R**	R**
		0.38	4	64	0.38	0.25	R
3	A-3	0.094	0.25	0.38	1	0.125	0.064
		0.064	12	12	0.064	0.125	3
4	A-4	0.094	0.125	0.125	1.5	0.125	0.047
		R**	R**	R**	R**	R**	R**
5	A-5	0.032	0.125	0.25	2	0.064	0.023
6	A-6	2	0.19	0.38	0.75	0.19	0.023
		결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음
7	A-7	3**	24**	R**	12	0.25	0.75
8	A-8	0.25	0.125	0.25	0.5	0.38	0.064
		결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음
9	A-9	0.125	32**	R**	6	0.19	R
10	A-10	0.25	64**	R**	1.5	1	R
11	A-11	0.38	0.125	0.38	2	0.19	0.064
12	A-12	0.094	0.094	0.25	1	0.094	0.19
13	A-13	1.5	0.125	0.19	1.5	0.25	0.047
		0.19	64**	R**	12	0.125	0.38
14	A-14	R**	R**	R**	R**	R**	R**
15	A-15	0.32	0.125	0.25	0.094	0.064	0.064
16	A-16	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음
17	A-17	1	0.94	0.125	1.5	0.19	0.32
18	A-18	0.38	128**	R**	R**	1	R**

19	A-19	38	0.047	0.19	6	0.19	0.064
20	A-20	6**	0.023	0.19	0.25	1.5	0.047
		0.25	12	R**	48**	1	R**
21	A-21	2	0.064	0.125	0.25	0.75	0.064
22	A-22	0.064	0.032	0.19	0.4	0.125	0.032
23	A-23	2	0.094	0.032	2	0.094	0.5
		0.125	24**	R**	32	R**	0.38
24	A-24	3**	0.064	0.125	3	0.125	0.75
25	A-25	16**	0.125	0.125	4	0.094	0.75
26	A-26	0.047	0.094	0.25	0.19	0.094	0.094
27	A-27	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음
28	A-28	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음
29	A-29	6**	0.19	0.125	3	0.094	0.38
30	A-30	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음	결과없음

* MIC 또는 R(Resistance) 표기

** ESFA 권장 기준을 초과하는 농도

▶ **유해 미생물, 곰팡이독소 검출**

- 미생물 사료는 유익 미생물을 동물의 장내에 정착시켜 병원성 미생물의 성장을 억제시키는 한편 질병예방을 위한 목적으로 사용됨으로 병원성미생물의 검출을 제한하고 있으며, 곰팡이독소 또한 질병을 야기하는 물질로써 허용기준을 제한하고 있어 동물의 건강과 밀접한 관계를 지닌 안전성 지표로써 유해 미생물 및 곰팡이 독소 검출 유무를 평가함
- 미생물 사료에 대한 병원성미생물 검출은 제품시료를 10배 희석 후 지시약이 포함된 유해미생물 검출 배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하여 colony의 색깔 확인하고 의심 colony의 경우 유전자 분석을 진행 함
- *E. coli*(대장균)은 지시약이 포함된 3M 건조필름 (EC/대장균 검출배지)를 사용하여 파란색 colony 검출 시 추가 분석 수행하였고, *Salmonella*는 XLD agar 배지를 사용하여 진회색 colony 검출 시 추가 분석을 수행함
- 시료 내의 곰팡이 독소(아플라톡신, 오크라톡신A, 데옥시니발레놀)를 친화성 컬럼을 통해 농축한 후 C18컬럼을 사용하여 분석하였음
- 병원성 미생물 및 곰팡이 독소 검출 결과, 모든 시료에서 곰팡이 독소는 검출되지 않았고 미생물 사료 제품 2개 (A-5, A-15)에서 *E. coli* 병원성 미생물이 식품관리법 유해미생물 기준치(1×10^2 CFU/g) 이상으로 검출되었음 (표 18)

표 18. 미생물 사료에 대한 병원성 미생물 및 곰팡이독소 검출 결과

No.	샘플명	병원성미생물 (<i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i>)	곰팡이독소
1	A-1	불검출	불검출
2	A-2	불검출	불검출
3	A-3	불검출	불검출
4	A-4	불검출	불검출
5	A-5	<i>E. coli</i> 8.0×10^2 검출	불검출
6	A-6	불검출	불검출
7	A-7	불검출	불검출
8	A-8	불검출	불검출
9	A-9	불검출	불검출

10	A-10	불검출	불검출
11	A-11	불검출	불검출
12	A-12	불검출	불검출
13	A-13	불검출	불검출
14	A-14	불검출	불검출
15	A-15	<i>E. coli</i> 9.0 x 10 ³ 검출	불검출
16	A-16	불검출	불검출
17	A-17	불검출	불검출
18	A-18	불검출	불검출
19	A-19	불검출	불검출
20	A-20	불검출	불검출
21	A-21	불검출	불검출
22	A-22	불검출	불검출
23	A-23	불검출	불검출
24	A-24	불검출	불검출
25	A-25	불검출	불검출
26	A-26	불검출	불검출
27	A-27	불검출	불검출
28	A-28	불검출	불검출
29	A-29	불검출	불검출
30	A-30	불검출	불검출

▶ 미생물 사료의 동물세포 활성 평가

- 미생물 대사물질이 동물세포 활성에 미치는 영향을 분석함으로써 해당 미생물 섭취 시 동물의 건강에 미치는 유익한 효과를 간접적으로 확인할 수 있는 지표로서 동물세포 활성 평가를 수행함
- 동물세포 활성 평가에 사용되는 마우스 대식세포인 RAW264.7(mouse)세포는 DMEM에 10% FBS, 1% penicillin streptomycin이 함유된 배양액을 사용하여 37℃, 5% CO₂, 90% humidity의 조건하에 배양하였고, 미생물 기능성 평가에 사용된 배양 상등액은 각각 미생물 배양조건에서 24시간 배양한 후 상등액을 filtering(pore size 0.2µm)하여 준비하였음
- 미생물 배양 상등액을 RAW264.7(mouse)세포에 첨가하고 24시간 배양 후 WST-1 assay를 통해 세포 활성을 측정함. 이 때 대조구의 경우 배양액 대신 동량의 PBS를 첨가하여 대조구로 사용하였음
- 동물세포 활성화 평가 결과는 log₂(처리구/대조구)로 증감을 계산하여 heatmap, %로 표시하였음
- 미생물 사료의 제품별 고초균 배양액은 모두 대조구에 비하여 처리구에서 면역세포 활성이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였음($p < 0.001$)
- 미생물 사료의 제품별 유산균 배양액은 한 개 제품을 제외하고 대조구에 비하여 처리구에서 면역세포 활성이 감소하였음. 이는 유산균배양액에 의해 낮아진 pH가 세포에 영향을 미친 것으로 판단됨
- 미생물 사료의 제품별 효모 배양액의 경우 8개 제품이 대조구에 비하여 처리구에서 면역세포 활성이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였음($p < 0.05$) (그림 26)



그림 26. 미생물 사료에 대한 동물세포 활성 평가 결과

▶ 축산병원균에 대한 항균활성 평가

- 산업동물의 강건성 및 생산성 개선을 기대할 수 있는 지표로써 축산병원균의 항균활성을 평가함
- NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards) Method에 기초하여 항균능을 확인하기 위해 국가병원체자원은행(NCCP)로부터 분양받은 대표적인 축산병원성 세균/진균을 대상으로 LB, SD, BHI plate배지에 도말한 후 (1~2 x 10⁸ CFU/mL), 멸균된 paper disc를 올려놓고 샘플을 20 µL 떨어뜨려 흡수시켰음. 그 후 30 ~ 37 °C 배양기에서 1일간 배양하였음
- 미생물 사료의 항균활성 측정 결과 A-2, A-4 제품에서 동물의 설사와 구토 등을 일으키는 *Y. enterocolitica* 병원균에 대한 저해능력을 확인할 수 있었음 (표 19)

표 19. 미생물 사료에 대한 축산병원균에 대한 항균활성 결과

No.	제품명	<i>Salmonella</i> Typhimurium (NCCP 10438)	<i>Salmonella</i> Enteritidis (NCCP 14546)	<i>E.coli</i> K99 (KCTC 2617)	<i>Yersinia enterocolitica</i> (NCCP 11129)	<i>Candida Tropicalis</i> (NCCP 30262)
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (Positive Control)	++	++	+	+++	++
1	A-1	-	-	-	-	-
2	A-2	-	-	-	++	-
3	A-3	-	-	-	-	-
4	A-4	-	-	-	++	-
5	A-5	-	-	-	-	-
6	A-6	-	-	-	-	-
7	A-7	-	-	-	-	-
8	A-8	-	-	-	-	-
9	A-9	-	-	-	-	-

10	A-10	-	-	-	-	-
11	A-11	-	-	-	-	-
12	A-12	-	-	-	-	-
13	A-13	-	-	-	-	-
14	A-14	-	-	-	-	-
15	A-15	-	-	-	-	-
16	A-16	-	-	-	-	-
17	A-17	-	-	-	-	-
18	A-18	-	-	-	-	-
19	A-19	-	-	-	-	-
20	A-20	-	-	-	-	-
21	A-21	-	-	-	-	-
22	A-22	-	-	-	-	-
23	A-23	-	-	-	-	-
24	A-24	-	-	-	-	-
25	A-25	-	-	-	-	-
26	A-26	-	-	-	-	-
27	A-27	-	-	-	-	-
28	A-28	-	-	-	-	-
29	A-29	-	-	-	-	-
30	A-30	-	-	-	-	-

*+++,>14~17mm;+,>12~14mm;+,>11mm;w(weak), less than 9mm;- , no inhibition zone

○ 미생물 사료에 대한 효능평가 (*in vivo*, 양계)

- 미생물 사료의 양계 *in vivo* 효능평가는 양계에 적용 가능한 미생물 사료를 선정하여 활용 하였으며, 사료에 대한 첨가량은 사료 권장량의 1배와 5배 처리하여 수행하였음
- 미생물 사료의 양계에서의 *in vivo* 효능평가 항목(생산성, 혈액의 정상, 분내악취물질, 육질평가, 장내 미생물 균총 조성 및 균주 동정)을 적용하여 진행됨

▶ 실험 준비 및 실험 디자인

- 미생물 사료의 효능평가를 위해 육용계 Ross 308 1일령 (540수)과 육용계 Arbor Acres 1일령 (900수) 2가지 품종의 육계를 활용하여 실험을 수행하였으며, 각각의 적용 기초사료는 한국가금사양표준 (2017)의 요구 영양소에 맞게 옥수수과 대두박을 위주로 배합하여 육계 전기 사료와 후기 사료로 제조하여 사용하였음(표 20, 21)
- 전기 및 후기사료는 각각 가루사료 형태를 expanding한 후, 크럼블 및 펠릿 형태로 가공한 시판 사료를 이용하였으며, 미생물 사료첨가제를 기초사료에 각각 권장량의 1배와 5배로 첨가하여 35일간(5주) 진행하였음 (표 22)
- 계사 내부 온도는 실험 첫 주에 평균 33℃를 유지하고, 이후 일주일마다 2도씩 온도를 하강시켜 종료 시 까지 26 ℃로 유지하였으며, 음수와 사료 급여는 무제한 급여를 실시하였고 24시간 동안 점등하여 진행하였음

표 20. 육용계 Ross 308에 사용한 기초사료의 배합비 및 영양 조성

Item	Starter diet	Grower diet
Ingredient, %		
Corn	49.56	53.62
Wheat	5.00	5.00
SBM	36.23	31.81
Soybean oil	4.85	5.86
DL-methionine, 98%	0.31	0.24
L-lysine HCl, 78%	0.26	0.06
L-threonine, 98%	0.12	0.03
Limestone	1.66	1.64
MCP	1.21	1.00
Choline Cl, 50%	0.08	0.07
Salt	0.28	0.28
Vitamin Premix	0.15	0.15
Mineral Premix	0.15	0.15
Phytase	0.05	0.05
NaHCO ₃	0.08	0.05
Chemical composition calculated		
CP, %	21.00	19.00
Crude fiber, %	3.00	2.86
Ca, %	0.90	0.85
Available Phosphorus, %	0.35	0.40
Total Lys, %	1.37	1.10
Total TSAA, %	0.99	0.87
Total Thr, %	0.90	0.74
AMEn, kcal/kg	3,050	3,150

* Vitamin mixtures provided the following nutrients per/kg feed: vitamin A, 13500 IU; vitamin D3, 3300 IU; vitamin E, 22.5 IU; vitamin K3, 3 mg; vitamin b1, 2.25 mg; vitamin B2, 7.5 mg; vitamin B6, 4.5 mg; vitamin B12, 0.03 mg; pantothenic acid, 15 mg; niacin, 45 mg; biotin, 0.225 mg; folic acid, 15 mg; antioxidant 66%, 4.5 mg.

* Mineral mixtures provided the following nutrients per/kg feed: Fe, 60 mg; Co, 0.075 mg; Cu, 60 mg; Mn, 90 mg; Zn, 75 mg; I, 1.5 mg; Se, 0.15 mg.

표 21. 육용계 Arbor Acres에 사용한 기초사료의 배합비 및 영양 조성

Item	Starter diet	Grower diet
Ingredient, %		
Corn	50.75	53.32
Wheat	5.00	5.00
SBM (IMP)	34.09	31.36
Tallow	4.99	6.19
L-methionine, 98%	0.32	0.25
Lysine-Syn 24%	0.96	0.24
L-threonine, 98%	0.13	0.03
Limestone	1.59	1.48
MDCP	1.29	1.30
Choline Cl, 50%	0.10	0.07
Salt	0.28	0.28
Vitamin Premix	0.15	0.15
Mineral Premix	0.15	0.15
Phytase	0.02	0.02
NaHCO ₃	0.16	0.16
Chemical composition calculated		
CP, %	21.00	19.00
Crude fiber, %	2.88	2.96
Ca, %	0.90	0.85
Available Phosphorus, %	0.35	0.35
Total Lys, %	1.20	0.95
Total TSAA, %	0.99	0.87
Total Thr, %	0.90	0.74
AMEn, kcal/kg	3,070	3,150

* Vitamin mixtures provided the following nutrients per/kg feed: vitamin A, 13500 IU; vitamin D3, 3300 IU; vitamin E, 22.5 IU; vitamin K3, 3 mg; vitamin b1, 2.25 mg; vitamin B2, 7.5 mg; vitamin B6, 4.5 mg; vitamin B12, 0.03 mg; pantothenic acid, 15 mg; niacin, 45 mg; biotin, 0.225 mg; folic acid, 15 mg; antioxidant 66%, 4.5 mg. * Mineral mixtures provided the following nutrients per/kg feed: Fe, 60 mg; Co, 0.075 mg; Cu, 60 mg; Mn, 90 mg; Zn, 75 mg; I, 1.5 mg; Se, 0.15 mg.

표 22. 처리구별 미생물 사료첨가제의 조성

Treatment	Probiotics component	CFU/g	Others
A-1	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁷	사료 1톤당 1-2kg 혼합급여
	<i>Sacchromyces cerevisiae</i>		
	<i>Lactobacillus plantarum</i>		
	Distiller's Grains		
A-2	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁶	기타 성분: 효소(Amylase) 등 사료 1톤당 1-5kg 혼합급여
	<i>Enterococcus faecium</i>		
	<i>Sacchromyces cerevisiae</i>		
A-3	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁷	사료 1톤당 1-2kg 혼합급여
	<i>Clostridium butyricum</i>	10 ⁶	
A-4	효모배양물	10 ⁷	사료 1톤당 2-3kg 혼합급여
	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁷	
A-5	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁷	-
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10 ⁷	

	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10 ⁷	
A-18	<i>Lactobacillus plantarum</i>	10 ⁸	물 1톤당, 본제 1통 이상을 접종하여 2-3일 배양 (권장 배양온도: 30-35도)
	<i>Bacillus licheniformis</i>		
A-19	<i>Bacillus polyfermenticus</i>	3.0 x 10 ⁸	기타 성분: 유카추출물(사포닌)6%이상 사료 1톤당 0.5-2kg를 혼합급여
		3.0 x 10 ⁸	
A-20	<i>Bacillus subtilis</i>	2.0 x 10 ⁷	사료 1톤당 1-2kg 혼합급여
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2.0 x 10 ⁶	
A-21	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁷	-
A-22	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁶	원료: 미생물대사산물 사료 1톤당 1-2kg 혼합급여
	효모		
	유산균		

▶ 성장 지표 산출

- 체중(BW)과 사료섭취량(FI), 폐사 수수는 매주 집계되었음. 체중을 측정하기 위해 반복 내에 있는 개체들을 한 번에 무게를 측정 한 후 마리 수로 나누어 평균 체중을 산출하였음. 사료 섭취량은 매주 남은 사료의 무게를 급여한 무게에서 빼 산출하였음. 증체량(BWG)은 각 주에 측정된 체중의 차이 값을 산출하여 나타내었으며 이를 날짜로 나누어 일당 증체량(ADG)를 표시하였음. 사료 요구율(FCR)은 사료섭취량을 일당 증체량으로 나누어 산출하였음

▶ 도계 후 장기 무게 및 부위별 육량 비교

- 선택 후 도계된 개체들로부터 내장(십이지장, 공장, 회장, 맹장), 면역 장기(간, 비장, F낭), 계육(가슴육, 다리육)을 채취하였음. 해당 샘플들은 도계 직후 4℃에 보관하였음. 내장, 면역 장기 및 계육의 상대적 중량은 처리구별 선별한 육계의 체중과 채취한 샘플의 무게를 측정하여 생체중 100 g당 무게를 비율로 나타내었음

▶ 육질 평가

- 계육의 pH는 가슴육의 1 cm 깊이에 pH meter(Hanna Instruments, Nufalau, Romania)를 넣었을 때, 나타난 수치로 산출하였으며 샘플 당 3회 측정하였음. 가열감량(Cooking loss)*은 시료를 원형의 일정한 모양으로 정형한 후, polyethylene bag에 넣어 75℃ water bath(C-WBE, Chang Shin co., Korea)에서 30분간 가열하였음. 이후 상온에서 10분간 방냉시켰으며 가열 전, 후의 무게 차이를 비교하여 감량된 양을 산출하였음

* Cooking loss(%) = $\frac{\text{Sample weight before cooking} - \text{Sample weight after cooking}}{\text{Sample weight before cooking}} \times 100$

- 육색은 시료의 표면을 색도계(Chromameter, CR210, minolta, Japan)을 사용하여 명도(lightness)를 나타내는 L*값, 적색도(redness)를 나타내는 a*값과 황색도(yellowness)를 나타내는 b*값을 측정 하였음. 이때의 표준색은 L*값이 97.69, a*값이 -0.43, b*값이 +1.98인 calibration plate를 사용 하였음

▶ 소화장관의 길이 비교

- 미생물제제의 사료 내 첨가에 따른 소장 및 맹장의 길이와 무게를 측정하였음. 소장은 십이지장, 공장 및 회장의 3부위로 나누어 측정하였으며, 결과는 총 길이 (cm), 생체중 100 g 당 길이 (cm)로 나타내었음

▶ 장 내 미생물 균총 조성 및 균주 동정

- 회장 및 맹장 내 생균수 검사는 MRS, NA, MacConkey, SS(*Salmonella shigella*) (Difco, USA) 평판배지로 표준한천배양법을 사용하여 측정하였음. 각 장관의 내용물 1g과 pH 7.2의 PBS(Phosphate buffered solution) 9 ml에 넣은 후 균질화 과정을 거쳐 1차 희석을 하였으며, 이후 1% Peptone water에 순차적으로 희석하였음. 그 후 각각의 배지에 10 μ l을 drop plate한 후 SS, NA, MacConkey 배지에서는 37 $^{\circ}$ C 인큐베이터에서 24시간 동안 호기상태로 배양하고 MRS 배지에서는 BD GasPak EZ(Becton Dickinson and Co., MD 21152, USA)와 함께 37 $^{\circ}$ C에서 48시간 동안 혐기배양 하였음. 나타난 유효 colony 수를 측정하여 CFU/g을 계산, log₁₀ 값으로 환산하였고 모든 실험은 3반복으로 진행하였음. 맹장 내 우점 균주의 동정을 위하여 모든 반복의 장 내용물을 같은 비율로 혼합한 뒤, 평판배지에 도말하여 우점종 미생물을 선별하였으며 선별된 미생물을 16S rRNA sequencing 방법으로 동정하였음. 동정은 16S rRNA gene을 785F(forward primer: 5'- GGATTAGATACCOCTGGTA-3') 및 907R(3'-COGTC AATTCMTTFRAGTTT-5')를 이용하여 16S rRNA 유전자 염기서열을 밝혔음. NCBI의 BLAST를 이용하여 Gene bank에서 유전자의 유사성을 분석하였음

▶ 소화장관의 용모 및 음와 형태학적 지표 비교

- 반복 당 선택된 두 마리의 개체 중, 한 마리에서 적출한 소장 구획 중 공장, 회장으로 구분하여 실시하였음. 공장과 회장의 가운데 약 5cm 정도를 절단한 후 saline을 이용하여 장내 내용물을 제거하였음. 10% formalin 용액에 침지하여 Falcon tube에 담아 icebox에 보관하여 실험실로 이동, 상온에 보관하였음. 이를 paraffin film으로 처리하기 위하여 KP&t(Korea Pathology Technical Center, Cheongju-si, Korea)에 위탁하였음. Villi 의 높이(VH)와 crypt의 깊이(CD)를 관찰하기 위해 전자 현미경(BX43, Olympus, Tokyo, Japan) 과 eXcope X3 software(DIXI Science, Daedeok-gu, Daejeon, Republic of Korea)를 사용하였으며, 5 부분에서 길이를 측정하고 이의 평균을 데이터로서 사용하였음

▶ 혈액 내 hematology 분석

- 현장에서 펜딩 도계된 개체에서 심장 채혈하여 얻은 약 8ml의 혈액은 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 처리된 채혈관에 넣어 icebox에 보관하여 실험실로 이동하였음. 원심분리기 전의 전혈은 KP&t(Korea Pathology Technical Center, Cheongju-si, Korea)에서 red blood cell(RBC), white blood cell(WBC), hemoglobin, hematocrit(HCT), mean cell volume(MCV), mean corpuscular hemoglobin(MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration(MCHC), platelet (PLT)를 정량 분석 하였음

▶ 혈청 내 생화학 지표 분석

- 심장 채혈을 통해 개체 당 약 10 ml 의 혈액을 채혈하였음. 채혈한 혈액을 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 처리된 채혈관에 주입하여 4 $^{\circ}$ C에 원심분리기(HA-1000-3, 한일사이언스메디칼 , 대전광역시 유성구)를 이용하여 1,500rpm으로 10분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였음. 분리된 혈청을 전자동 건조생화학분석기(CHEM 7000i, Japan)를 이용하여 Gamma glutamyl transpeptidase(GGT), glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT), glucose, blood urea nitrogen(BUN), creatine, triglyceride(TG), total protein(TP), albumin, uric acid, total cholesterol(TCHO)를 분석하였음

▶ 깔짚 내 악취 원인물질 농도 비교

- 본 실험에서는 악취물질을 평가하기 위하여 국립환경과학원에서 고시한 악취공정시험법(2014)에 따라 실험을 수행하였음. 악취물질의 포집을 위하여 농도 평형을 실시하였음. 100 g의 깔짚 샘플에 2.5 L/min의 유속으로 질소(N₂)가스를 15분간 주입한 후, TEDLAR 백에 가스를 포집하였음. 암모니아(NH₃), 황화수소(SO₂), 이산화황(H₂S)을 검지관 (Gastec detector tube, Japan)과 휴대용 악취 측정기 (SKY2000-M4, Locus Airtech, Korea)를 사용하여 측정하였음. 각 가스의 농도를 정확하게 평가하기 위하여 버니어 캘리퍼스를 이용하여 눈금을 측정하고 이를 보정하였음

▶ 통계분석

- 본 연구의 데이터 분석은 Statistical Analysis System 9.4(SAS, Institute, 2011)의 PROC MIXED Model을 이용하여 분석하였으며, 완전무작위배치(Complementary randomized design) 실험법을 이용하여 실험을 설계하였음. 생산성 조사항목과 깔짚의 악취 원인물질 농도 분석에 대해서는 각 반복을 실험 단위로 설정하였으며, 이외 조사항목에서는 선택된 각 개체를 실험단위로 설정하였음. 일원분산 분석(ANOVA)을 통해 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 결정했으며 처리구 간 다중 사후검정은 Tukey's test를 이용하여 비교하였음. 데이터의 변이는 standard error of mean(SEM)으로 나타내었음

○ 양계 사양실험을 통한 미생물제제의 *in vivo* 효과 및 품질 측정모델 개발 결과 및 고찰

▶ 성장 지표

- 미생물 사료 첨가에 따른 육계(육용계 Ross 308)의 생산성 지표는 표 23에 나타내었음. 체중에 있어서 21일령 체중의 경우 A-2와 A-5가 NC보다 유의적으로 낮았으며, 이외 나머지 처리구들과는 유의적인 차이가 없었음($p < 0.05$). 35일령의 체중은 A-1, A-2, A-3, 그리고 A-5처리구가 NC보다 유의적으로 낮았음 ($p < 0.01$). 증체량의 경우 전기 동안 A-2와 A-5가 NC보다 유의적으로 낮았으며($p < 0.05$), 전체 기간 동안의 증체량은 A-1, A-2, A-3 및 A-5가 NC보다 유의적으로 낮았음($p < 0.01$). 일당증체량은 전기에서 A-2와 A-5가 NC보다 유의적으로 낮았음($p < 0.05$). 전체 기간 동안의 일당증체량은 A-1, A-2, A-3, 및 A-5가 NC보다 유의적으로 낮았음 ($p < 0.01$). 그러나 일당사료섭취량과 사료효율은 처리구간 유의적인 차이가 없었음
- 본 연구에서 사용한 기초사료의 형태가 전기 사료인 크럼블 형태 또는 후기 사료인 펠릿 형태인 것이 크게 작용한 것으로 보임. 대조구를 제외한 다른 처리구에 사용한 실험 사료의 경우 배합 과정에서 크럼블 또는 펠릿 입자가 일부 분쇄되나, 대조구의 경우 배합과정을 거치지 않았기 때문에 입자가 평균적으로 다른 처리구보다 굵은 것으로 나타났음. 따라서 대조구의 경우 다른 모든 처리구 대비 높은 성장지표를 보인 것으로 사료됨
- 생균제 첨가에 따른 육계(육용계 Arbor Acres)의 생산성 지표는 표 24에 나타내었음. 체중은 7일령 체중의 경우 A-2와 A-18처리구들이 NC보다 유의적으로 낮았으며, 나머지 처리구들은 유의적인 차이가 없었음($p = 0.01$). 사료요구율(FCR)의 경우 전기 동안 A-1처리구가 NC보다 유의적으로 수치가 낮아서 결과적으로 사료효율이 가장 높았음 ($p < 0.001$). 후기 기간 동안의 사료효율은 A-6처리구가 NC보다 유의적으로 사료효율이 높았음($p = 0.0092$). 전체 기간 동안의 사료효율은 A-1처리구가 NC보다 유의적으로 높았음 ($p = 0.0048$). 그러나 증체량, 일당증체량 및 일당사료섭취량은 처리구간 유의적인 차이가 없었음
- 본 연구에서 사용한 전기 및 후기 기초사료의 형태는 첨가제를 잘 혼합하기 위하여 모두 가루 사료를 사용하였음. 가루사료는 육계의 초기 성장에 큰 영향을 미치지 않지만 닭의 행동 습관으로 인해 성장 후기에는 사료섭취량에 영향을 미칠 수 있음을 고려해야 함
- 이러한 결과들은 기존 보고들과 비교 시 유사 하며 그 내용은 다음과 같음. 김 등 (2020)은 *Lactobacillus plantarum*, *B. subtilis*, *S. cerevisiae* 등이 포함되어 있는 시판 복합 생균제를 육계에게 35일간 식이 급여한 결과, 체중 및 증체량을 비롯한 모든 생산성 지표에서 유의적인 변화가 없었다고 보고하였음. 또한, 손 등 (2004)에 따르면, *Enterococcus* 속 미생물과 *L. plantarum*, *L. reuteri*, *B. subtilis* 등의 유익균 조성을 다르게 한 시판 생균제를 육계에 급여한 결과 식이 급여된 유익균의 종류에 따른 생산성 지표 변화는 유의적 차이가 없음을 보고하였음

표 23. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 생산성 비교(육용계 Ross 308)

Item	Treatment						SEM	P-value	
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4			A-5
BW(g)									
Day 21	1337.59 ^a	1247.30 ^{ab}	1274.90 ^{ab}	1221.52 ^b	1242.66 ^{ab}	1258.46 ^{ab}	1221.57 ^b	10.03	0.03
Day 35	2953.39 ^a	2882.82 ^{ab}	2813.40 ^b	2816.86 ^b	2827.43 ^b	2878.63 ^{ab}	2804.59 ^b	10.76	<0.01
BW gain(g/bird)									
Starter	1293.58 ^a	1203.29 ^{ab}	1230.87 ^{ab}	1177.53 ^b	1198.67 ^{ab}	1214.47 ^{ab}	1177.63 ^b	10.03	0.03
Finisher	1615.80	1635.52	1538.50	1595.34	1584.77	1620.18	1583.02	10.42	0.27
Total	2909.38 ^a	2838.81 ^{ab}	2769.37 ^b	2772.87 ^b	2783.44 ^b	2834.64 ^{ab}	2760.65 ^b	10.75	<0.01
ADG(g/day/bird)									
Starter	61.60 ^a	57.30 ^{ab}	58.61 ^{ab}	56.07 ^b	57.08 ^{ab}	57.83 ^{ab}	56.08 ^b	0.48	0.03
Finisher	115.41	116.82	109.89	113.95	113.20	115.73	113.07	0.74	0.27
Total	83.13 ^a	81.11 ^{ab}	79.13 ^b	79.22 ^b	79.53 ^b	80.99 ^{ab}	78.88 ^b	0.31	<0.01
ADFI(g/day/bird)									
Starter	69.62	67.25	66.61	65.81	66.05	67.40	64.51	0.43	0.06
Finisher	157.08	157.45	149.82	152.66	153.09	155.31	155.60	1.06	0.53
Total	104.61	103.33	99.89	100.55	100.87	102.57	100.94	0.53	0.20
FCR									
Starter	1.13	1.18	1.14	1.17	1.16	1.17	1.15	0.01	0.73
Finisher	1.36	1.35	1.37	1.34	1.35	1.34	1.38	0.01	0.94
Total	1.26	1.27	1.26	1.27	1.27	1.27	1.28	0.01	0.98

표 24. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 생산성 비교(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	p-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
BW (g/bird)														
Day 7	160.67 ^{ab}	171.17 ^a	159.73 ^{ab}	152.67 ^b	159.07 ^{ab}	158.81 ^{ab}	157.20 ^{ab}	153.73 ^b	156.27 ^{ab}	160.54 ^{ab}	162.53 ^{ab}	164.92 ^{ab}	3.11	0.01
Day 21	924.13	973.44	935.73	924.22	920.94	924.32	904.27	871.87	914.38	914.67	924.07	936.10	18.49	0.13
Day 35	1845.33	2024.90	1947.96	1922.17	1927.31	1908.53	1863.20	1911.19	1914.91	1904.00	1944.39	1948.57	39.39	0.24
BWG (g/bird)														
Grower phase	884.13	933.44	895.73	884.22	880.94	884.32	864.27	831.87	874.38	874.67	884.07	896.10	18.49	0.13
Finisher phase	921.20	1051.47	1012.23	997.95	1006.37	984.21	958.93	1039.32	1000.53	989.33	1020.32	1012.47	28.15	0.16
Total phase	1805.33	1984.90	1907.96	1882.17	1887.31	1868.53	1823.20	1871.19	1874.91	1864.00	1904.39	1908.57	39.39	0.24
ADG (g/day/bird)														
Grower phase	42.10	44.45	42.65	42.11	41.95	42.11	41.15	39.61	41.64	41.65	42.10	42.67	0.88	0.13
Finisher phase	65.80	75.10	72.30	71.28	71.88	70.30	68.50	74.24	71.47	70.67	72.88	72.32	2.01	0.16
Total phase	51.58	56.71	54.51	53.78	53.92	53.39	52.09	53.47	53.57	53.26	54.41	54.53	1.13	0.24
FI (g/day/bird)														
Grower phase	53.80	55.61	49.83	53.13	53.49	53.83	52.43	51.07	52.72	53.13	54.18	52.99	1.08	0.07
Finisher phase	118.90	124.21	123.99	121.01	124.65	122.62	119.86	121.20	124.31	122.78	123.13	123.02	2.23	0.74
Total phase	79.84	83.05	79.49	80.28	81.95	81.35	79.40	79.12	81.36	80.99	81.76	81.00	1.30	0.84
FCR (each bird)														
Grower phase	1.28 ^a	1.25 ^a	1.17 ^b	1.26 ^a	1.27 ^a	1.28 ^a	1.28 ^a	1.29 ^a	1.27 ^a	1.28 ^a	1.29 ^a	1.24 ^a	0.01	<0.001
Finisher phase	1.81 ^a	1.65 ^b	1.71 ^{ab}	1.70 ^{ab}	1.73 ^{ab}	1.75 ^{ab}	1.75 ^{ab}	1.64 ^b	1.74 ^{ab}	1.74 ^{ab}	1.69 ^{ab}	1.70 ^{ab}	0.03	0.0092
Total phase	1.55 ^a	1.46 ^b	1.46 ^b	1.50 ^{ab}	1.52 ^{ab}	1.53 ^{ab}	1.53 ^{ab}	1.48 ^{ab}	1.52 ^{ab}	1.52 ^{ab}	1.50 ^{ab}	1.48 ^{ab}	0.02	0.0048

▶ 도계 후 장기 무게 및 부위별 육량

- 미생물 사료 첨가에 따른 육계(육용계 Ross 308)의 내장 및 계육 무게를 표 25에 나타내었으며, 모든 내장, 면역 장기 및 계육의 상대적 중량에는 처리구간의 유의적인 차이가 없었음($p>0.05$)
- 미생물 사료 첨가에 따른 육계(육용계 Arbor Acres)의 내 장 및 계육 무게를 표 26에 나타내었으며, 모든 내장, 면역 장기 및 계육의 상대적 중량에는 처리구간의 유의적인 차이가 없었음($p>0.05$)
- 기존의 보고에서 Chen 등 (2013)은 육계에 *B. subtilis*와 *C. butyricum*이 포함된 시판 생균제를 급여한 결과, 가슴육의 무게는 변화가 없었으나, F낭과 비장의 경우 생균 첨가에 의하여 유의적으로 무게가 증가하였다고 보고하였음. Hossain 등 (2012)은 *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *E. faecium* 등이 포함된 복합 생균제를 육계에 첨가할 경우 첨가 농도에 따라 가슴육과 다리육이 유의적으로 증가하였으나, 간을 비롯한 내장 기관의 무게는 차이가 없었다고 보고하였음. 본 연구에서는 육량 및 내장 기관의 무게는 미생물 사료 첨가구 별로 차이가 없었음. 내장기관의 무게 변화가 없는 것은 각 생균 제품이 대사 기능과 면역 기능에 부정적 영향이 없음을 나타낸 것으로 판단하였음. 또한 육량에 영향이 없는 것은 생산성 지표에서 처리구 별 체중의 차이가 없어 계육 부위에서의 무게 차이가 통계적으로 나타나지 않는 것으로 판단됨

표 25. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 내장 및 계육 무게 변화(육용계 Ross 308)

Item	Treatment							SEM	P-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5		
Visceral organ weight, g per 100g BW									
Liver	1.73	1.65	1.77	1.76	1.73	1.72	1.74	0.03	0.98
Spleen	0.08	0.07	0.07	0.08	0.07	0.07	0.08	<0.01	0.60
Bursa of Fabricius	0.14	0.16	0.19	0.16	0.16	0.18	0.17	<0.01	0.15
Meat weight, g per 100g BW									
Breast	11.54	11.53	11.62	11.62	11.27	11.65	12.12	0.10	0.46
Leg	9.46	9.42	9.75	9.66	9.62	9.61	9.81	0.08	0.82

표 26. 미생물 사료 첨가에 따른 계육의 내장 및 무게 변화(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	p-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
The ratio of visceral organ weight to body weight														
Liver (%)	1.78	1.80	1.69	1.69	1.69	1.80	1.62	1.69	1.75	1.79	1.68	1.66	0.07	0.74
Spleen (%)	0.12	0.11	0.11	0.11	0.11	0.14	0.10	0.12	0.12	0.14	0.11	0.12	0.01	0.35
Bursa of Fabricius (%)	0.18	0.14	0.48	0.18	0.16	0.16	0.18	0.14	0.14	0.16	0.17	0.19	0.08	0.33
The ratio of meat weight to body weight														
Breast (%)	11.08	11.44	11.35	11.53	11.24	11.77	11.23	11.25	11.50	10.68	11.53	10.85	0.35	0.68
Leg (%)	9.66	9.42	9.67	9.85	9.62	9.51	9.69	9.42	9.47	9.93	9.40	9.53	0.26	0.94

▶ 육질 평가

- 미생물 사료의 급여에 따른 육계(육용계 Ross 308) 가슴육의 품질에 대한 분석 결과는 표 27에 나타내었으며, pH, 가열감량(Cooking loss), 색도의 명도, 적색도, 황색도는 처리구간의 유의적인 차이가 없었음 ($p>0.05$)
- 미생물 사료의 급여에 따른 육계(육용계 Arbor Acres) 가슴육의 품질에 대한 분석 결과는 표 28에 나타내었으며, pH 는 대조구와 처리구간의 유의적인 차이가 없고 A-5는 양성대조구 (PC)보다 낮았음 ($p<0.001$)
- 모든 처리구의 pH범위는 5.50~5.66범위에 있었음. JU 등 (2019)은 닭고기 평가 신선도는 1등급은 pH 5.18 ~ 6.12, 2등급은 pH 6.13 ~ 6.16, 상한 고기의 pH는 6.17 이상이라고 하였으며 본 연구의 모든 처리구들은 신선도를 유지하고 있었음. Cavitt 등 (2005)은 육계가 사후 시간이 지남에 따라 닭고기의 pH는 유의적으로 떨어졌다고 보고하였음. 가열감(Cooking loss)은 처리구간에 유의적인 차이가 없었음
- 육색에 있어서 명도의 경우는 대조구와 처리구간의 유의적인 차이가 없지만 A-18은 A-3와 A-19보다 L값이 낮았음($p=0.0016$). JU 등 (2019)은 CIELAB 시스템의 L(*명도), a(*적색도) 및 b(*황색도) 중 L 값이 가장 일반적으로 사용되며 값이 작을수록 육색이 좋다고 하였음. 적색도의 경우 A-22은 A-1보다 a값이 유의적으로 낮았음($p=0.0071$). 황색도의 경우 NC는 처리구 A-3와 A-21보다 유의적으로 낮았고 양성대조구(PC)와 비교해도 유의적으로 낮았음($p=0.0005$). 가열감량(Cooking loss)은 처리구간의 유의적인 차이가 없었음 ($p>0.05$)
- 이러한 결과들은 기존 보고들과 비교 시 유사 하며 그 내용은 다음과 같음. Chen 등 (2013)은 생균 첨가와 고밀도 또는 저밀도 영양소의 사료 공급이 육계에 미치는 영향에 대한 연구에서, 생균첨가 유무 보다는 사료 에너지원의 포함 정도가 계육의 보수력에 영향을 미치며, 색도 지표에는 어떠한 영향이 없음을 보고하였음. Cramer 등 (2018)은 *B. subtilis*로 이루어진 시판 생균제를 육계에 권장 농도로 첨가하여 급여하였을 때, 명도, 적색도 및 황색도 모두 유의적인 변화가 없었다고 보고하였음

표 27. 미생물 사료의 급여에 따른 육계 가슴육의 품질 분석(육용계 Ross 308)

Item	Treatment							SEM	P-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5		
pH	5.59	5.62	5.57	5.65	5.67	5.60	5.68	0.02	0.59
Cooking loss, %	25.03	21.46	24.25	21.78	22.34	21.57	20.39	0.45	0.06
L	59.22	57.07	58.20	58.03	57.53	57.18	57.57	0.26	0.36
a*	-0.11	0.25	0.44	0.23	-0.03	-0.03	0.53	0.15	0.88
b*	9.63	9.55	9.26	8.50	9.15	9.04	9.56	0.21	0.81

표 28. 미생물 사료의 급여에 따른 육계 가슴육의 품질 분석(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	P-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
pH	5.59 ^{abcd}	5.66 ^a	5.64 ^{abc}	5.57 ^{abcd}	5.64 ^{ab}	5.55 ^{bcd}	5.50 ^d	5.64 ^{abc}	5.56 ^{abcd}	5.53 ^{cd}	5.56 ^{abcd}	5.55 ^{abcd}	0.02	<0.001
Cooking loss (%)	22.35	25.88	25.20	24.07	24.08	24.46	24.25	22.56	25.09	25.87	22.61	25.75	0.97	0.0663
L	56.33 ^{ab}	55.29 ^{ab}	55.52 ^{ab}	56.36 ^{ab}	57.16 ^a	56.29 ^{ab}	56.48 ^{ab}	54.93 ^b	57.24 ^a	55.59 ^{ab}	55.69 ^{ab}	56.17 ^{ab}	0.42	0.0016
a*	1.41 ^{ab}	1.79 ^{ab}	2.02 ^a	1.19 ^{ab}	1.39 ^{ab}	1.34 ^{ab}	1.48 ^{ab}	1.65 ^{ab}	1.21 ^{ab}	1.57 ^{ab}	1.73 ^{ab}	0.98 ^b	0.19	0.0071
b*	4.33 ^b	5.81 ^a	5.44 ^{ab}	5.75 ^a	5.68 ^a	4.79 ^{ab}	5.30 ^{ab}	4.93 ^{ab}	5.21 ^{ab}	5.36 ^{ab}	5.65 ^a	4.70 ^{ab}	0.27	0.0005

▶ 소화장관의 길이 특성

- 육계(육용계 Ross 308) 사료 내 미생물 사료의 첨가 급여가 육계의 소장 길이에 미치는 영향은 표 29에 나타내었으며, 소장(십이지장, 공장, 회장) 및 맹장의 상대적 길이는 모든 처리구에서 유의적인 차이를 보이지 않았음 ($p>0.05$)
- 육계(육용계 Arbor Acres) 사료 내 미생물 사료의 첨가 급여가 육계의 소장 길이에 미치는 영향은 표 30에 나타내었으며, 공장의 길이 및 생체중의 비율은 처리구 A-18와 A-21처리구들이 대조구보다 유의적으로 낮았음. 회장과 맹장에서는 모든 처리구별에 따른 유의적인 변화가 없었음
- 체중 대비 십이지장 및 공장의 길이에 대한 비율에서 양성대조구(PC)는 음성대조구(NC)에 비교하여 유의적으로 낮았음. 모든 생균제 처리구들도 음성대조구에 비교해 유의적인 차이는 없으나 낮은 경향을 보였음. 생균제의 첨가는 장의 길이를 줄이는 것으로 사료됨
- 소장은 단백질, 지방, 탄수화물 등 주요 영양소들의 소화가 일어나는 곳으로 Dror 등 (1977)의 보고에 따르면, 소장 길이의 증가는 병아리의 생체중과 아주 밀접한 연관이 있다고 하였음. 김 등 (2000)의 연구에서, 육계 사료 내 생균제를 첨가하였을 때 십이지장, 공장 및 회장의 길이와 무게가 증가하여 소장 내 영양소를 흡수할 수 있는 표면적을 늘려줌으로써 사료효율을 개선시킴을 보고하였음. 육계 사료 내 프리바이오틱 및 프로바이오틱 첨가에 따른 소화장관 길이의 변화에 대한 다양한 연구가 진행되고 있음. Toghyani 등 (2011)은 육계 사료 내 프로바이오틱 및 프리바이오틱 첨가가 장 및 맹장의 길이에 큰 영향을 주지 않음을 확인하였으며, 대부분의 선행연구에서도 이와 유사한 결과를 보여주었음(Daşkıran 등, 2012; Saiyed 등, 2015; Steczny 등, 2020). Moon 등 (2021)은 보다 길고 무거운 장기는 그것들을 유지하기 위해 더 많은 에너지를 필요로 하여 육계의 생산성에 부정적인 영향을 미칠 수 있음을 시사하였음

표 29. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 소화장관 길이 비교(육용계 Ross 308)

Item	Treatment							SEM	<i>p</i> -value		
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5				
Length, cm											
Duodenum	27.50	27.71	28.05	27.00	26.37	27.18	25.41	0.33	0.39		
Jejunum	73.85	69.77	72.41	72.11	74.09	74.74	77.15	0.82	0.30		
Ileum	81.05	75.08	78.55	78.59	76.36	78.95	83.26	0.86	0.17		
Cecum	33.35	36.64	36.43	34.92	34.60	35.82	35.04	0.35	0.16		
Length, cm per 100g BW											
Duodenum	1.00	1.02	1.05	1.01	0.98	1.00	0.95	0.01	0.50		
Jejunum	2.69	2.58	2.71	2.68	2.75	2.76	2.88	0.03	0.30		
Ileum	2.95	2.80	2.94	2.92	2.83	2.92	3.11	0.03	0.30		
Cecum	1.21	1.35	1.37	1.30	1.28	1.32	1.31	0.01	0.10		

표 30. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 소화장관 길이 비교(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	<i>p</i> -value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
Length (cm)														
Duodenum	28.02	25.53	26.85	24.87	26.60	24.72	26.14	25.87	26.35	25.74	24.05	27.64	0.93	0.12
Jejunum	77.08 ^a	72.49 ^{ab}	70.15 ^{ab}	70.67 ^{ab}	66.72 ^{ab}	73.8 ^{ab}	71.42 ^{ab}	64.20 ^b	68.30 ^{ab}	72.52 ^{ab}	65.46 ^b	72.30 ^{ab}	2.29	0.0054
Ileum	70.5	64.65	67.20	63.29	64.75	67.55	65.09	64.32	68.40	68.07	65.85	68.00	2.38	0.64
Cecum	16.85	16.78	16.01	15.49	16.16	14.79	16.04	14.69	15.71	16.40	15.11	15.30	0.60	0.17
The ratio of intestinal length to body weight														
Duodenum (%)	1.61 ^a	1.28 ^b	1.39 ^{ab}	1.32 ^{ab}	1.41 ^{ab}	1.32 ^{ab}	1.41 ^{ab}	1.43 ^{ab}	1.40 ^{ab}	1.36 ^{ab}	1.32 ^{ab}	1.49 ^{ab}	0.06	0.0325
Jejunum (%)	4.42 ^a	3.61 ^b	3.63 ^{ab}	3.79 ^{ab}	3.54 ^b	3.93 ^{ab}	3.87 ^{ab}	3.59 ^b	3.65 ^{ab}	3.82 ^{ab}	3.59 ^b	3.88 ^{ab}	0.17	0.0323
Ileum (%)	4.03	3.23	3.48	3.37	3.43	3.6	3.55	3.58	3.67	3.57	3.61	3.64	0.16	0.18
Cecum (%)	0.97	0.84	0.82	0.83	0.86	0.79	0.87	0.82	0.84	0.86	0.83	0.82	0.04	0.16

▶ 장 내 미생물 균총 조성 및 동정 결과

- 육용계 Ross 308의 장 내 미생물 균총 조성은 표 31에 나타내었으며, 회장 내 총 생균 수는 A-1, A-2 및 A-3가 NC에 비하여 유의적인 차이가 없었으나, PC보다는 높았음. A-4 및 A-5 처리구는 모든 처리구들에 비해 유의적으로 낮았음($p < 0.01$). 유산균 수는 PC와 A-5가 NC에 비해 유의적으로 낮았으며, 이외 나머지 처리구들 간 유의적 차이는 없었음($p < 0.01$). Coliform bacteria의 경우, A-4가 NC, PC, 및 A-3에 비해 유의적으로 낮았으며 다른 처리구간 유의적 차이는 발생하지 않았음 ($p < 0.01$). *Shigella* 및 *Salmonella* 속 미생물의 경우 NC 대비 A-1은 감소하였으며, A-4는 모든 처리구에 대하여 유의적으로 감소하였음($P < 0.01$). 맹장 균총 조성에 대해서는 유산균 총이 PC와 함께 A-1, A-4 및 A-5가 NC 대비 유의적으로 감소하였음($p < 0.01$). Coliform bacteria의 경우 A-3 및 A-5가 NC 대비 유의적으로 감소하였으며 이외 다른 처리구와는 유의적 차이가 없었음($p < 0.01$). *Shigella* 및 *Salmonella* 속 미생물은 A-1이 NC, PC 및 A-2 대비 유의적으로 감소하였음($p < 0.01$)
- 본 연구에서, NC 및 PC와 비교하였을 때 특정 균총 조성의 생균제 처리구에서 유산균 총의 변화는 없으면서 Coliform을 비롯한 그람 음성균총 및 *Shigella* 나 *Salmonella* 속의 부정적인 미생물 균총이 감소하였으며, 이외 다른 균총에서 어떠한 유의적 차이가 없었음
- 생균제 처리구 중 *B. subtilis*가 공통적으로 포함되어 있는 A-1과 A-4 처리구에서 각각 다른 장관 부분(회장 또는 맹장)의 부정적 균총 조성이 감소하는 것으로 보아, 같은 균주 포함의 생균제일지라도 혼합 또는 단독 사용에 따라서 효과가 상이하게 나타날 수 있음을 시사함
- 육용계 Arbor Acres의 장내 미생물균총 조성은 표 32에 나타내었으며, 회장 내 총 생균수는 A-18이 PC, A-2, A-3, A-5, A-9에 비하여 유의적인 차이가 없었으나, 그 외의 나머지 처리구들 보다는 유의적으로 높았음($p < 0.0001$). 유산균은 A-1 처리구는 모든 처리구들에 비해 유의적으로 낮았음 ($p < 0.0001$). A-20 처리구는 NC보다 유의적으로 높았음 ($p < 0.0001$). Coliform bacteria의 경우, 처리구 A-1, A-18, A-20, A-21은 NC에 비해 유의적으로 낮았으며, 다른 처리구간 유의적 차이는 없었음($p < 0.0001$). *Shigella* 및 *Salmonella* 속 미생물의 경우, A-18, A-20, A-21 처리구는 NC보다 높았으며 남은 처리구들과는 유의적인 차이가 없었음($p < 0.0001$). 맹장 내 총 생균수는 A-3, A-5, A-18, A-20, A-21, A-22 처리구는 NC보다 유의적으로 높았음($p < 0.0001$). 유산균 수의 경우, A-1, A-5, A-20, A-21, A-22 처리구들이 유의적으로 높았지만, A-1 처리구는 NC보다 낮음 ($p < 0.0001$). PC는 모든 처리구들에 비해 유의적으로 낮음($p < 0.0001$). Coliform bacteria의 경우, A-2, A-3, A-5, A-18, A-20, A-21, A-22 처리구는 NC보다 유의적으로 높았음 ($p < 0.0001$). *Shigella* 및 *Salmonella* 속 미생물의 경우, 처리구 A-5, A-18, A-20, A-21, A-22는 NC보다 유의적으로 높았음 ($P < 0.0001$)
- 미생물 사료 처리구 중 *B. subtilis*가 공통적으로 포함된 A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-19, A-21, A-22 처리구에서 각각 다른 장관 부분(회장 또는 맹장)의 부정적 균총 조성이 변화하는 것으로 보아, 같은 균주가 포함된 생균제일지라도 혼합 또는 단독 사용에 따라서 그 효과가 상이하게 나타날 수 있음을 시사함
- 본 연구에서 사용된 균주에 따른 이전 연구들을 살펴보면, *B. subtilis*의 경우, 고농도의 시판 생균제를 0, 300, 600 mg/kg의 처리구로 하여 육계 사양연구를 한 결과, 맹장을 비롯한 대장에서 유산균총은 증가하고 *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, 및 *Salmonella* 속 미생물은 감소한다는 보고가 있음 (Jeong 등, 2014). *C. butyricum*의 경우, 육계에 높은 농도로 식이 급여할 수록 맹장 내 *E. coli*와 *Salmonella* 속 균총은 감소하였으며, 반면 항생제 처리 사료 급여구에 비해 유산균총은 보다 많이 발견되었음 (Yang 등, 2012). *S. cerevisiae*의 경우, 배양액을 사료에 배합한 후 육계에 급여하였을 때 분 내 유산균총과 *E. coli*, *Salmonella* 속 미생물의 조성에 영향이 없었음 (Hoque 등, 2020). *E. faecium*에 대한 연구로는, *E. coli* K88에 감염된 육계에 생균제를 급여할 경우 맹장 내 *E. coli* 및 *C. clostridium*을 감소시키며 유산균총을 증가시킨다고 보고하였음 (Gao 등, 2013)

표 31. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 장내 미생물 균총 변화(육용계 Ross 308)

Item	Treatment							SEM	p-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5		
Ileum									
Total microbes	8.54 ^{ab}	8.17 ^{bc}	8.64 ^a	8.61 ^a	8.72 ^a	7.67 ^d	7.78 ^{cd}	0.06	<0.01
Lactobacilli	8.93 ^a	8.46 ^b	8.83 ^{ab}	8.77 ^{ab}	8.84 ^{ab}	8.67 ^{ab}	8.53 ^b	0.04	<0.01
Coliform bacteria	7.93 ^a	7.78 ^a	7.28 ^{ab}	7.38 ^{ab}	7.53 ^a	6.71 ^b	7.33 ^{ab}	0.07	<0.01
<i>Shigella</i> and <i>Salmonella</i>	7.37 ^a	6.82 ^{ab}	6.12 ^b	6.76 ^{ab}	7.17 ^a	5.16 ^c	7.11 ^a	0.11	<0.01
Cecum									
Total microbes	7.76	7.68	7.72	7.62	7.56	7.51	7.61	0.04	0.51
Lactobacilli	8.09 ^{ab}	7.97 ^b	7.95 ^b	8.47 ^a	8.18 ^{ab}	7.94 ^b	7.73 ^b	0.05	<0.01
Coliform bacteria	7.62 ^a	7.35 ^{ab}	7.18 ^{ab}	7.08 ^{ab}	6.91 ^b	7.20 ^{ab}	6.81 ^b	0.06	<0.01
<i>Shigella</i> and <i>Salmonella</i>	6.63 ^a	6.28 ^a	5.72 ^b	6.54 ^a	6.21 ^{ab}	6.17 ^{ab}	6.29 ^{ab}	0.06	<0.01

표 32. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 장내 미생물 균총 변화(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	p-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
Ileum														
Total microbes	8.12 ^b	8.32 ^{ab}	8.18 ^b	8.40 ^{ab}	8.36 ^{ab}	7.94 ^b	8.47 ^{ab}	8.89 ^a	8.28 ^b	8.32 ^b	8.44 ^{ab}	8.17 ^b	0.12	<.0001
Lactobacilli	7.82 ^{bc}	7.44 ^{cd}	6.74 ^d	7.76 ^{bc}	7.70 ^{bc}	7.50 ^{cd}	8.22 ^{abc}	8.44 ^{ab}	8.08 ^{abc}	8.78 ^a	8.38 ^{ab}	8.06 ^{abc}	0.17	<.0001
Coliform bacteria	7.80 ^{cd}	8.09 ^{bc}	8.60 ^{ab}	8.39 ^{abc}	7.96 ^{bcd}	7.39 ^d	8.18 ^{bc}	8.95 ^a	8.14 ^{bc}	8.26 ^{bc}	8.33 ^{abc}	8.35 ^{abc}	0.14	<.0001
<i>Shigella</i> and <i>Salmonella</i>	7.57 ^{de}	7.88 ^{cde}	7.93 ^{cd}	8.03 ^{bcd}	7.39 ^e	7.50 ^{de}	7.74 ^{de}	8.70 ^a	7.70 ^{de}	8.48 ^{ab}	8.36 ^{ab}	7.92 ^{cd}	0.11	<.0001
Cecum														
Total microbes	8.26 ^{de}	8.81 ^{abc}	8.09 ^e	8.71 ^{bcd}	9.21 ^a	8.58 ^{cd}	8.98 ^{abc}	9.02 ^{abc}	8.67 ^{bcd}	9.13 ^{ab}	9.09 ^{ab}	9.03 ^{abc}	0.10	<.0001
Lactobacilli	8.19 ^{cd}	7.27 ^e	7.47 ^e	7.60 ^{de}	8.38 ^{bc}	8.20 ^{bcd}	8.80 ^{ab}	7.55 ^e	7.74 ^{de}	9.23 ^a	9.17 ^a	9.2 ^a	0.13	<.0001
Coliform bacteria	7.87 ^{de}	8.43 ^{bc}	7.67 ^e	8.65 ^{abc}	8.92 ^{ab}	8.29 ^{cd}	8.88 ^{ab}	8.85 ^{ab}	8.27 ^{cd}	9.08 ^a	8.98 ^a	8.99 ^a	0.11	<.0001
<i>Shigella</i> and <i>Salmonella</i>	7.72 ^d	8.15 ^{bcd}	7.70 ^d	8.36 ^{bcd}	7.99 ^{cd}	8.22 ^{bcd}	8.58 ^{abc}	8.40 ^{bc}	7.71 ^d	8.43 ^{bc}	8.73 ^{ab}	9.15 ^a	0.14	<.0001

▶ 맹장 내 미생물 균주의 분리 및 동정 결과

- 육용계 Ross 308의 맹장 내 미생물 균주의 동정 결과는 표 33에 나타내었으며, NC와 PC의 경우 우점 균주들의 종류는 거의 일치하였음
- A-1은 *Bacillus subtilis* 가 우점균주로서 검출되었고 그 외 *Lactobacillus crispatus*, *Shigella flexneri* 등이 분리 동정되었음
- A-2에서는 첨가된 *Bacillus subtilis*와 *Enterococcus faecium*를 비롯하여 *Shigella flexneri*, *Escherichia fergusonii* 등이 우점균주로서 분리되었음
- A-3의 경우 첨가한 균은 속은 분리동정 되지 않았고 *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia fergusonii* 등이 검출되었음
- A-4의 경우 첨가제에 포함된 *Bacillus subtilis*가 우점균주로서 파악 되었으며, 그 외 *Lactobacillus agilis*, *Escherichia fergusonii* 등이 분리되었음
- A-5의 경우에는 *Bacillus subtilis*는 검출되지 않았고, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus sciuri* 등이 검출되었음
- 육용계 Arbor Acres의 맹장 내 미생물 균주의 동정 결과는 표 34에 나타내었음
- A-1은 *Ligilactobacillus salivarius*, *Shigella flexneri*, *Escherichia fergusonii* 등이 분리 동정되었음
- A-2에서는 첨가된 *Bacillus subtilis*와 *Enterococcus faecium*는 검출되지 않았고, *Ligilactobacillus salivarius*, *Escherichia fergusonii*, *Shigella flexneri* 등이 분리 동정되었음
- A-3의 경우 첨가한 균은 속은 분리동정 되지 않았고 *Lactobacillus crispatus*, *Ligilactobacillus salivarius*, *Shigella flexneri* 등이 분리 동정되었음
- A-4 경우에는 *Ligilactobacillus salivarius*, *Escherichia fergusonii*등이 분리 동정되었음
- A-5 경우에는 *Enterococcus gallinarum*, *Shigella dysenteriae*등이 검출되었음
- A-18는 *Ligilactobacillus salivarius*, *Enterococcus cecorum*, *Shigella flexneri* 주로 분리 동정되었음
- A-19은 주로 *Enterococcus faecium*, *Shigella flexneri*등이 분리 동정되었음
- A-20은 *Ligilactobacillus salivarius*, *Enterococcus gallinarum*, *Escherichia fergusonii*등이 분리 동정되었음
- A-21에서는 첨가된 *Bacillus subtilis*와 *lactobacillus*를 검출되지 않았고, 주로 *Ligilactobacillus salivarius*, *Enterococcus faecium* 등이 분리 동정되었음
- A-22은 *Ligilactobacillus agilis*, *Ligilactobacillus salivarius*등이 분리 동정되었음

표 33. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 맹장 내 미생물 균주 동정 결과(육용계 Ross 308)

Treatments	Media			
	NA	MRS	MAC	SS
NC	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus agilis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus agilis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
PC	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia marmotae</i>
		<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
A-1	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Lactobacillus faecalis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Escherichia marmotae</i>

A-3	<i>Bacillus siamensis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
	<i>Bacillus siamensis</i>			<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
				<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
A-4	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus agilis</i>		<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
	<i>Bacillus velezensis</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>		<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
				<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
A-5	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Enterococcus faecium</i>		<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella sonnei</i>
	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>		<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	<i>Staphylococcus sciuri</i>			<i>Escherichia fergusonii</i>	

표 34. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 맹장 내 미생물 균주 동정 결과(육용계 Arbor Acres)

Treatments	Media			
	NA	MRS	MAC	SS
NC	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Shigella flexneri</i>		<i>Shigella dysenteriae</i>
PC	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Enterococcus pseudoavium</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Pseudomonas japonica</i>
	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Pseudomonas japonica</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella flexneri</i>
A-1	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Ligilactobacillus salivarius</i>	<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella sonnei</i>	
A-2	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Ligilactobacillus salivarius</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Shella dysenteriae</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
	<i>Kurthia populi</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Morganella morganii</i>	
A-3	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
	<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Ligilactobacillus salivarius</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Shigella sonnei</i>
	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigellasonnei</i>	<i>Escherichia marmotae</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
		<i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	

A-4	<i>Shigella flexneri</i> <i>Streptococcus</i> <i>alactolyticus</i> <i>Escherichia marmotae</i> <i>Kurthia populi</i>	<i>Ligilactobacillus</i> <i>salivarius</i> <i>Escherichia fergusonii</i> <i>Shigella sonnei</i> <i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia fergusonii</i> <i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella sonnei</i> <i>Escherichia fergusonii</i>
A-5	<i>Shigella flexneri</i> <i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Enterococcus</i> <i>gallinarum</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia marmotae</i>
A-18	<i>Shigella flexneri</i> <i>Kurthia gibsonii</i> <i>Enterococcus</i> <i>cecorum</i> <i>Kurthia populi</i>	<i>Ligilactobacillus</i> <i>salivarius</i> <i>Ligilactobacillus</i> <i>salivarius</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella sonnei</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i>
A-19	<i>Shigella flexneri</i> <i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Enterococcus</i> <i>faecium</i> <i>Shigella fdysenteriae</i> <i>Kurthia gibsonii</i> <i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Acinetobacter</i> <i>guillouiae</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i>
A-20	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Kurthia gibsonii</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Kurthia populi</i>	<i>Ligilactobacillus</i> <i>salivarius</i> <i>Enterococcus</i> <i>gallinarum</i> <i>Kurthia gibsonii</i> <i>Escherichia marmotae</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Escherichia fergusonii</i>
A-21	<i>Shigella flexneri</i> <i>Kurthia gibsonii</i> <i>Shigella flexneri</i>	<i>Ligilactobacillus</i> <i>salivarius</i> <i>Enterococcus</i> <i>faecium</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Kurthia gibsonii</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia fergusonii</i> <i>Shigella sonnei</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i>
A-22	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Kurthia gibsonii</i> <i>Acinetobacter</i> <i>gandensis</i> <i>Shigella flexneri</i>	<i>Ligilactobacillus</i> <i>salivarius</i> <i>Ligilactobacillus agilis</i> <i>Kurthia gibsonii</i> <i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia fergusonii</i> <i>Shigella flexneri</i>

▶ 소화장관의 용모 및 음와 형태학적 지표 비교

- 육용계 Ross 308 사료에 5종의 미생물 사료의 첨가가 소화장관의 용모 및 음와의 형태에 미치는 영향은 표 35에 나타내었음. 분석 결과, 용모의 길이(VH)와 음와의 길이(CD)는 모든 소화장관 구간에서 처리구간 유의적 차이가 발생하지 않았음($p>0.05$)
- 육용계 Arbor Acres 사료에 미생물 사료의 첨가가 소화장관의 용모 및 음와의 형태에 미치는 영향은 표 36와 같음. 공장내 있어서 음와의 길이(CD) 경우 A-4 처리구는 NC보다 유의적으로 낮았음($p<0.0001$). 공장내 음와와 용모의 길이 비율의 경우 A-8처리구는 NC보다 유의적으로 높았음($p<0.0001$). 회장에 있어서 음와의 길이(CD) 경우 A-1 처리구는 NC보다 유의적으로 높았음($p<0.0001$). 용모의 길이(VH) 경우 A-3처리구는 NC보다 유의적으로 높았음($p<0.0001$). 처리구 A-2, A-19, A-21, A-22는 용모와 음와 길이 비율은 NC보다 유의적으로 낮았음 ($p<0.0001$)
- 이러한 결과들은 기존 보고들과 비교 시 유사 한데, MA 등 (2008)은 유산균은 장 용모를 증가시키고 장벽이 두꺼워지며 육계 장의 성장과 발달을 크게 촉진할 수 있다고 보고하였음

표 35. 미생물 사료 첨가에 따른 육계 소화 장관의 용모 및 음와 길이 비교(육용계 Ross 308)

Item	Treatment							SEM	P-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5		
Jejunum									
VH, um	938.7	936.5	1014.0	930.1	955.8	936.6	669.0	42.93	0.484
CD, um	129.2	140.6	161.2	138.9	151.1	143.8	132.2	4.42	0.505
VH/CD	7.65	7.20	6.30	6.97	6.91	6.87	5.28	0.433	0.856
Ileum									
Villus height, um	904.7	798.8	952.5	889.8	978.6	939.8	752.3	31.35	0.449
Crypt depth, um	165.7	151.1	149.8	157.1	143.3	133.6	134.8	8.57	0.962
Villus height/Crypt depth	6.10	6.17	6.51	7.09	6.92	7.21	5.70	0.356	0.925

표 36. 미생물 사료 첨가에 따른 육계 소화 장관의 용모 및 음와 길이 비교(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	p-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
Jejunum														
Villus height (VH), um	1163.77 ^{abcd}	1076.22 ^{cd}	1026.56 ^d	1355.56 ^{abc}	1435.71 ^a	1234.96 ^{abcd}	1142.62 ^{bcd}	1136.70 ^{bcd}	1395.3196 ^{ab}	1300.97 ^{abcd}	1305.31 ^{abcd}	1424.81 ^{ab}	62.08	<.0001
Crypt depth (CD), um	283.49 ^{abc}	229.87 ^{bcd}	309.41 ^a	298.89 ^{ab}	297.31 ^{ab}	205.57 ^d	219.79 ^{cd}	256.31 ^{abcd}	268.49 ^{abcd}	221.41 ^{cd}	259.19 ^{abc}	264.47 ^{abcd}	15.40	<.0001
VH/CD	4.41 ^{bc}	4.83 ^{abc}	3.40 ^c	5.07 ^{abc}	5.24 ^{ab}	6.06 ^{ab}	5.48 ^{ab}	4.94 ^{abc}	5.40 ^{ab}	6.37 ^a	5.32 ^{ab}	5.87 ^{ab}	0.39	<.0001
Ileum														
Villus height (VH), um	980.37 ^{bc}	962.38 ^{bc}	1338.43 ^a	953.85 ^{bc}	1169.46 ^{ab}	838.46 ^c	1046.79 ^{bc}	1019.45 ^{bc}	945.99 ^{bc}	1058.59 ^{bc}	1155.24 ^{ab}	1064.78 ^b	48.14	<.0001
Crypt depth (CD), um	292.30 ^c	322.33 ^{bc}	379.02 ^{abc}	399.50 ^{abc}	426.06 ^{ab}	324.58 ^{bc}	399.80 ^{abc}	399.40 ^{abc}	415.71 ^{ab}	465.99 ^a	481.124 ^a	447.864 ^a	23.93	<.0001
VH/CD	4.95 ^a	3.04 ^{ab}	4.11 ^{ab}	2.47 ^b	3.05 ^{ab}	2.68 ^{ab}	2.63 ^{ab}	2.91 ^{ab}	2.35 ^b	2.27 ^b	2.63 ^{ab}	2.45 ^b	0.52	0.0089

▶ **혈액성상**

- 육용계 Ross 308의 시판 미생물 사료 첨가에 따른 혈액성상 비교결과는 표 37에 나타내었으며, RBC, hemoglobin 및 HCT의 경우 A-4와 A-5 처리구가 다른 처리구에 비하여 유의적으로 높아졌으며, 반면 WBC는 감소하였음($p < 0.01$). MCH의 경우 A-4와 A-5 처리구가 A-2 처리구와는 차이가 없었으며, 이를 제외한 다른 모든 처리구에 비해 유의적으로 감소하였으며 ($p < 0.01$), MCHC의 경우 A-5가 PC, A-1 및 A-3에 대비하여 유의적으로 감소하였음 ($p < 0.01$). PLT는 A-4 및 A-5는 나머지 다른 처리구들에 대비하여 유의적으로 감소하였으며 NC는 A-2에 대하여 유의적으로 낮았음($p < 0.01$)
- 본 연구에서 특정 생균제 처리구에서 RBC 및 hemoglobin, HCT 모두 증가하였으나 빈혈지표인 MCV, MCH 및 MCHC는 처리구별 통계적으로 큰 차이가 없어 빈혈 상태와는 관련이 없는 것으로 보여짐. 그러나 WBC 및 PLT가 A-4 및 A-5 처리구에서 감소함은 골수 생성의 이상상태 및 병원체 감염상태를 나타내기 때문에 본 결과에 대한 심층적인 해석이 필요할 것으로 보임
- 육용계 Arbor Acres의 시판 미생물 사료 첨가에 따른 혈액성상 비교결과는 표 38에 나타내었으며, 본 연구에서, WBC를 제외한 모든 지표에서 유의적인 차이가 발생하지 않았음($p > 0.05$). WBC의 경우 A-2, A-3, A-4, A-18, A-20, A-21, A-22 처리구가 NC에 비해 유의적으로 낮은 수치를 보였음($p = 0.0002$)
- 본 연구에서 WBC를 제외한 모든 지표에서 유의적인 차이가 발생하지 않았음($p > 0.05$). 빈혈지표인 RBC, MCV, MCH 및 MCHC는 처리구별 통계적으로 큰 차이가 없어 빈혈 상태와는 관련이 없는 것으로 보여짐
- RBC, MCV, MCH, MCHC의 경우 빈혈의 진단에 사용되는 지표이며, WBC의 경우 면역계의 필수 요소인 백혈구의 수를 표현하는 지표로서 백혈구 증가는 병원균에 의한 감염 및 종양 등 골수생산에 의하여 나타날 수 있으며 감소는 골수 생성에 문제가 발생한 것으로 해석됨. 또한 혈소판의 감소는 일반적으로 적혈구 및 백혈구 생성 감소를 동반하며 발생하며 골수형성 이상으로 인해 발생한다고 알려짐 (박 등, 2010). Attia 등 (2020)은 시판 복합 생균제를 육계에 첨가 수준별로 급여한 결과, 첨가 수준이 높아짐에 따라 hemoglobin과 HCT가 유의적으로 높아졌다고 보고하였음. 반면 Sugiharto 등 (2018)은 복합 생균제를 육계에 급여한 경우 항생제 처리구와 비교하였을 시 hemoglobin 및 HCT의 차이가 없었다고 보고하였음

표 37. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 혈액성상 비교(육용계 Ross 308)

Item	Treatment							SEM	<i>p</i> -value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5		
RBC, x 10 ⁶ cells/ul	1.73 ^b	1.55 ^b	1.52 ^b	1.61 ^b	1.55 ^b	2.10 ^a	2.24 ^a	0.04	<0.01
WBC, x10 ³ cells/ul	16.60 ^{ab}	15.98 ^b	21.67 ^a	18.14 ^{ab}	17.00 ^{ab}	9.99 ^c	10.02 ^c	0.66	<0.01
Hemoglobin	6.25 ^b	5.63 ^b	5.53 ^b	5.71 ^b	5.57 ^b	7.08 ^a	7.37 ^a	0.11	<0.01
HCT, %	27.77 ^b	24.83 ^b	24.22 ^b	25.58 ^b	24.52 ^b	32.39 ^a	33.99 ^a	0.55	<0.01
MCV, fL	141.48	141.81	141.15	139.52	141.23	139.60	140.08	0.52	0.85
MCH, pg	31.94 ^a	32.12 ^a	32.16 ^a	31.14 ^{ab}	32.08 ^a	30.55 ^b	30.39 ^b	0.14	<0.01
MCHC, g/dL	22.58 ^{ab}	22.68 ^a	22.79 ^a	22.32 ^{ab}	22.71 ^a	21.88 ^{ab}	21.71 ^b	0.09	<0.01
PLT, x10 ³ cells/ul	72.00 ^b	75.40 ^{ab}	82.80 ^{ab}	91.10 ^a	76.70 ^{ab}	49.64 ^c	49.10 ^c	2.31	<0.01

표 38. 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 혈액성상 비교(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	<i>p</i> -value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
RBC, x10 ⁶ cells/ul	1.77	1.85	1.84	1.70	1.78	2.08	1.88	1.93	1.89	1.74	2.04	1.90	0.18	0.95
WBC, x10 ³ cells/ul	1.58 ^a	1.26 ^{ab}	0.74 ^{abc}	0.68 ^{bc}	0.66 ^{bc}	0.64 ^{bc}	0.73 ^{abc}	0.44 ^{bc}	0.82 ^{abc}	0.54 ^{bc}	0.32 ^c	0.46 ^{bc}	0.18	0.0002
Hemoglobin	5.94	6.21	6.07	5.65	5.88	6.46	6.08	6.44	6.39	5.35	6.71	6.25	0.57	0.93
HCT, %	24.58	26.33	26.19	24.33	26.89	29.09	27.18	28.87	28.10	23.40	29.17	27.18	2.65	0.89
MCV, fL	133.02	131.90	133.84	133.15	134.47	134.87	135.25	137.97	137.71	132.24	133.21	133.27	1.70	0.23
MCH, pg	32.41	31.50	31.39	31.29	29.96	30.16	30.71	31.16	31.44	28.30	30.76	31.17	1.12	0.60
MCHC, g/dL	24.33	23.88	23.46	23.54	22.29	22.35	22.69	22.58	22.82	20.82	23.09	23.40	0.79	0.21
PLT, x10 ³ cells/ul	7.10	4.80	4.90	4.10	4.60	5.80	5.20	5.40	5.50	4.40	4.30	5.10	0.65	0.12

▶ **혈청 내 생화학 지표**

- 육용계 Ross 308의 시판 미생물 사료 첨가에 따른 혈액 내 생화학 지표의 수치는 표 39에 나타내었으며, 본 연구에서 TC를 제외한 모든 지표에서 유의적인 차이가 발생하지 않았음($p>0.05$)
- TC의 경우 A-5 처리구가 A-4 처리구에 비해 유의적으로 높은 수치를 보였으며, 이외 다른 모든 처리구는 A-4 처리구 및 A-5처리구와 비교하였을 시 유의적인 차이가 없었음 ($p<0.05$). 반면, 이를 제외한 다른 지표에서 유의적인 차이가 없음을 확인함으로써 생균제의 급여가 육계의 체내에서 상당한 수준의 부정적 효과는 없음을 검증할 수 있었음
- 육용계 Arbor Acres의 시판 미생물 사료 첨가에 따른 혈액 내 생화학 지표의 수치는 표 40에 나타내었으며, 본 연구에서 GOT의 경우는 처리구 A-21는 NC보다 유의적으로 높았음 ($P=0.0244$). GPT의 경우, 처리구 A-20은 모든 처리구보다 유의적으로 낮았음($p<0.0001$)
- BUN의 경우, 처리구 A-2는 NC보다 유의적으로 낮았음($p=0.0005$). Creatine의 경우, 처리구 A-19과 A-20은 NC보다 유의적으로 높았음($p<0.0001$). TP의 경우, 처리구 A-20은 처리구 A-1, A-2, A-3, A-4보다 유의적으로 높았음($p=0.0035$). 그러나 GGT, Glucose, TG, Albumin, Uric acid와 TCHO는 유의차가 없었음
- 기존의 보고 내용들을 살펴보면, LIU등 (2017)은 혈청 내 GOT와 GPT의 활성은 심장과 간 기능을 판단하는 두 가지 중요한 지표라고 보고하였음. DU 등(2017)은 혈청 중의 TP과 BUN농도는 동물 체내의 단백질 대사 상황을 반영할 수 있고 혈청 내 BUN 함량이 높아졌다는 것은 체내 단백질 분해 및 대사 작용이 높다는 것을 의미한다고 하였음. 혈청 내 총 단백질 농도는 신체의 단백질 합성 및 대사 수준을 평가하는 효과적인 지표로 사용할 수 있으며, 총 단백질 농도가 높을수록 체내 단백질 합성효율이 높아져 육계 사료 전환 효율이 향상되었다고 보고하였음

표 39. 미생물 사료 첨가에 따른 육계 혈청 내 생화학 지표 수치 비교(육용계 Ross 308)

Item	Treatment							SEM	P-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5		
GGT, U/L	32.28	29.25	28.82	29.33	31.58	30.75	33.33	0.949	0.878
GOT, U/L	412.0	335.1	373.2	388.3	374.6	375.3	369.8	10.54	0.767
GPT/ U/L	5.10	4.42	4.80	4.33	4.50	5.25	4.17	0.126	0.232
Glucose, mg/dl	255.2	267.3	266.4	265.3	278.8	293.2	286.2	4.01	0.499
BUN, mg/dl	1.34	1.39	1.46	1.40	1.52	1.53	1.54	0.025	0.392
Creatine, mg/dl	0.183	0.208	0.218	0.200	0.233	0.225	0.208	0.007	0.382
TG, mg/dl	67.45	50.00	63.55	69.25	62.42	71.42	65.50	3.74	0.814
TP, g/dl	2.56	2.48	2.53	2.52	2.55	2.52	2.69	0.028	0.374
Albumin, g/dl	1.08	0.87	0.90	0.90	0.92	0.90	0.99	0.014	0.131
Uric acid, mg/dl	5.37	5.03	5.65	5.88	5.88	6.07	5.00	0.206	0.385
TC, mg/dl	128.6 ^{ab}	129.6 ^{ab}	121.2 ^{ab}	119.3 ^{ab}	122.4 ^{ab}	107.8 ^b	132.3 ^a	2.18	0.048

표 40. 미생물 사료 첨가에 따른 육계 혈청 내 생화학 지표 수치 비교(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	p-value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
GGT, U/L	35.50	34.50	32.78	39.13	34.13	31.75	36.13	37.75	39.25	38.25	36.25	37.75	2.33	0.35
GOT, U/l	183.63 ^b	203.00 ^{ab}	203.34 ^{ab}	237.38 ^{ab}	206.88 ^{ab}	244.50 ^{ab}	214.63 ^{ab}	206.00 ^{ab}	198.38 ^{ab}	211.125 ^{ab}	264.38 ^a	217.75 ^{ab}	15.30	0.0244
GPT, U/L	4.13 ^{ab}	4.88 ^a	4.33 ^{ab}	4.13 ^{ab}	4.13 ^{ab}	4.13 ^{ab}	3.88 ^{ab}	3.50 ^b	3.50 ^b	2.13 ^c	3.63 ^{ab}	3.63 ^{ab}	0.27	<.0001
Glucose, mg/dl	179.50	203.88	188.78	193.13	194.50	213.63	194.13	199.38	178.00	178.25	200.25	213.50	10.55	0.2049
BUN, mg/dl	1.86 ^{ab}	1.7 ^{abc}	1.69 ^{abc}	1.54 ^c	1.63 ^{bc}	1.7 ^{abc}	1.61 ^{bc}	1.69 ^{abc}	1.89 ^a	1.78 ^{abc}	1.65 ^{abc}	1.78 ^{abc}	0.05	0.0005
Creatine, mg/dl	0.21 ^{cd}	0.15 ^d	0.23 ^{bcd}	0.22 ^{bcd}	0.24 ^{abcd}	0.22 ^{bcd}	0.20 ^{cd}	0.23 ^{bcd}	0.34 ^a	0.29 ^{abc}	0.26 ^{abc}	0.32 ^{ab}	0.22	<.0001
TG, mg / dl	29.25	32.63	27.56	30.63	33.13	27.13	33.75	30.00	30.00	26.38	28.50	30.38	3.38	0.9018
TP, g/dl	2.93 ^{ab}	3.01 ^{ab}	2.76 ^b	2.88 ^b	2.88 ^b	2.80 ^b	2.94 ^{ab}	2.84 ^b	3.15 ^{ab}	3.41 ^a	2.95 ^{ab}	3.00 ^{ab}	0.11	0.0035
Albumin, g/dl	109.25	108.13	109.56	113.38	116.00	113.63	113.50	119.25	107.50	101.00	120.88	113.63	5.98	0.61
Uric acid, mg/dl	0.89	0.95	0.86	0.93	0.89	0.90	0.93	0.91	0.99	0.96	0.98	1.04	0.05	0.241
TCHO, mg/dl	4.11	3.18	3.57	3.54	3.63	3.48	3.73	3.40	4.16	3.50	3.48	3.81	0.38	0.85

▶ 깔짚 내 악취 원인물질 농도 비교

- 육용계 Ross 308의 시판 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 사육 후 깔짚 내 악취물질 농도는 표 41에 나타내었으며, 암모니아 농도는 모든 처리구에서 유의차가 보이지 않았으며 SO₂ 농도는 PC 처리구가 모든 처리구 중 유의적으로 가장 높은 수치를 보였음($p < 0.05$).
- H₂S은 전체적으로 유의적 차이를 보이지 않았음($p > 0.05$)
- 본 연구에서도 암모니아 및 황화수소의 경우 모든 처리구에서 유의적인 차이가 발견되지 않았음. 항생제 처리구에서의 깔짚에서 이산화황 농도가 높은 결과에 대해서는, 아직 육계 사육 환경에 대한 이산화황 배출에 대한 연구가 많이 이뤄지지 않은 이유로 추후 이에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 보임
- 육용계 Arbor Acres의 시판 미생물 사료 첨가에 따른 육계의 사육 후 깔짚 내 악취물질 농도는 표 42에 나타내었으며, 암모니아(Ammonia, NH₃) 농도와 아민(Amino, NH₂) 모든 처리구에서 유의차가 보이지 않았음
- 이산화황(sulphur dioxide, SO₂) 농도는 모든 실험 샘플에서 검출되지 않았음
- 본 연구에서도 암모니아 및 아민의 경우 모든 처리구에서 유의적인 차이가 발견되지 않았음
- 기존 보고들을 살펴보면, 윤 등 (2004)은 *Lactobacillus* sp, *Saccharomyces* sp, *Rhodobacter* sp. 및 *Aspergillus* sp.를 포함한 복합 생균제를 육계에 급여한 결과, 분 내 암모니아 및 이산화탄소 함량은 변화가 없다고 보고하였음. 박 등 (2020)에 따르면, 육계에 *B. velezensis* 배양액을 2% 첨가 급여할 경우에도 암모니아는 차이가 없었으며, 황화수소의 경우에는 측정 수준 이하였다고 보고하였음

표 41. 미생물 사료의 첨가에 따른 육계 사육 후 깔짚 내 악취 원인물질 농도(육용계 Ross 308)

Item	Treatment							SEM	<i>p</i> -value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5		
Ammonia, ppm	115.24	116.09	98.31	114.20	116.04	113.24	114.13	4.84	0.96
SO ₂ ,ppm	0.91 ^b	1.28 ^a	0.79 ^b	0.80 ^b	0.81 ^b	0.83 ^b	0.76 ^b	0.04	<0.01
H ₂ S,ppm	0.70	0.501	0.64	0.66	0.65	0.69	0.64	0.02	0.11

표 42. 미생물 사료의 첨가에 따른 육계 사육 후 깔짚 내 악취 원인물질 농도(육용계 Arbor Acres)

Item	Treatment												SEM	<i>p</i> -value
	NC	PC	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-18	A-19	A-20	A-21	A-22		
Ammonia, ppm	32.56	37.28	33.86	31.66	29.67	23.85	38.94	44.00	42.73	40.41	40.24	21.05	6.59	0.28
Amine, ppm	105.76	129.32	149.57	108.98	84.07	75.21	136.04	148.93	114.42	133.43	113.28	67.08	21.46	0.10

* Sulfur dioxide (SO₂): 모든 실험 샘플에서 불검출

○ 미생물 사료에 대한 효능평가 (*in vivo*, 양돈)

- 미생물 사료의 양돈 *in vivo* 효능평가는 양돈에 적용 가능한 미생물 사료를 선정하여 활용하였으며, 사료에 대한 첨가량은 권장량의 1배와 5배로 수행하였음
- 미생물 사료의 양돈에서의 *in vivo* 효능평가 항목(생산성, 혈액의 성상, 분내악취물질, 돈분 부숙도 측정)을 적용하여 진행됨

▶ 실험 준비 및 실험 디자인

- 미생물 사료의 효능평가를 위해 3원교잡종 [(Landrace × Yorkshire) × Duroc] 이유자돈 (160두) 과 3원교잡종 [(Landrace × Yorkshire) × Duroc] 육성돈 (200두) 2가지 품종의 양돈을 활용하여 실험을 수행하였으며, 시험사료는 NRC (2012) 요구량에 따라 배합한 옥수수-대두박 위주의 사료를 사용하였고 시험사료와 물은 자유 채식토록 하였음
- 이유자돈은 총 6주간 실험이 진행되었으며, 미생물 사료를 권장량의 1배로 첨가하여 진행하였음
- 육성돈은 5주와 10주간 진행되었으며, 미생물 사료를 권장량의 5배로 첨가하여 진행하였음

▶ 생산성

- 일당증체량, 일당사료섭취량, 사료효율은 시험 개시 및 종료 시에 각 개체 별로 체중을 측정하였으며, 사료섭취량은 체중측정 시 사료 급여량에서 잔량을 제하여 계산하였고, 사료효율은 일당증체량을 사료 섭취량으로 나누어 산출하였음
- 이유자돈 사료 내 미생물 사료 제품 첨가가 이유자돈의 생산성에 미치는 영향은 표 43에 나타내었음
- 육성-비육기간 내 미생물 사료 제품 첨가가 육성돈의 생산성에 미치는 영향은 표 44에 나타내었음
- 전체 시험기간 동안 체중, 일당증체량, 일당사료섭취량 및 사료효율에 있어 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았음 ($p>0.05$)

표 43. The effect of dietary antibiotic and microorganism supplementation on growth performance in weaning pigs¹

Items	NC	PC	A-2	A-5	SEM ²
Body weight, kg					
Initial	6.03	6.03	6.03	6.03	0.004
Week 6	23.61	24.25	23.89	23.92	0.30
Overall					
ADG, g	419	439	425	429	7
ADFI, g	571	590	578	583	9
G:F	0.734	0.744	0.735	0.736	0.007

¹Abbreviation: NC, Basal diet; PC, Basal diet + 0.1% 암피더블산; A-2, Basal diet + 0.1% A-2; A-5, Basal diet + 0.1%A-5

²Standard error of means

표 44. The effect of dietary antibiotic and microorganism supplementation on growth performance in growing pigs¹

Items	NC	A-2	A-3	A-18	SEM ²
Body weight, kg					
Initial	52.51	52.51	52.50	52.50	0.02
Week 10	104.05	106.16	105.32	104.19	1.14
Overall					
ADG, g	736	767	755	738	16

ADFI, g	2,502	2,543	2,541	2,568	34
G:F	0.294	0.301	0.297	0.286	0.005

¹Abbreviation: NC, Basal diet; A-2, Basal diet + 0.5% A-2; A-3, Basal diet + 0.5% A-3; A-18, Basal diet + 0.5% A-18.
ADG, average daily gain; ADFI, average daily feed intake; G:F, gain:feed

²Standard error of means

▶ 분 내 약취물질

- 시험 종료 시에 각 처리구에서 동일한 시간 동안 배설된 분을 채취한 후, 신선한 분 300g을 취하여 2,600mL의 밀봉된 플라스틱 용기에 넣고 실온에서 7일간 발효 및 보관한 후 NH₃, H₂S, Methyl mercaptan, Acetic acid 및 CO₂은 복합가스 측정기(MultiRAE Lite model PGM-6208, RAE, USA)을 사용하여 측정하였음
- 이유자돈 사료 내 미생물 사료 제품 첨가가 이유자돈의 분내 약취물질에 미치는 영향은 표 45에 나타내었음
- 육성돈 사료 내 미생물 사료 제품 첨가가 육성돈의 분내 약취물질에 미치는 영향은 표 46에 나타내었음
- 권장량의 5배 사료첨가제 급여 시 분내 NH₃에 있어 처리구간 유의적인 차이가 나타남(p<0.05)

표 45. The effect of dietary antibiotic and microorganism supplementation on gas emission in weaning pigs¹

Items, ppm	NC	PC	A-2	A-5	SEM ²
Week 6					
NH ₃	2.13	2.25	2.25	2.13	0.28
H ₂ S	2.33	2.45	2.25	2.28	0.19
Methyl mercaptans	3.50	3.88	3.50	3.25	0.28
Acetic acid	7.38	7.25	7.13	7.88	0.92
CO ₂	10,650	10,575	10,175	10,425	366

¹Abbreviation: NC, Basal diet; PC, Basal diet + 0.1% 암피더블산; A-2, Basal diet + 0.1%A-2; A-5, Basal diet + 0.1% A-5

²Standard error of mean

표 46. The effect of dietary antibiotic and microorganism supplementation on gas emission in growing pigs¹

Items, ppm	NC	A-2	A-3	A-18	SEM ²
Week 5					
NH ₃	5.50 ^a	4.33 ^{ab}	4.50 ^{ab}	4.00 ^b	0.20
H ₂ S	3.25	3.10	3.30	3.20	0.35
Methyl mercaptans	4.00	5.63	4.63	5.13	0.49
Acetic acid	10.88	10.38	10.25	10.13	0.81
CO ₂	10,825	10,900	11,350	11,225	278
Week 10					
NH ₃	7.75 ^a	6.00 ^b	6.50 ^{ab}	5.83 ^b	0.26
H ₂ S	3.50	3.05	3.38	3.33	0.23

Methyl mercaptans	5.63	4.88	5.75	5.38	0.40
Acetic acid	12.25	11.75	12.13	12.13	0.93
CO ₂	13,300 ^a	11,600 ^b	11,800 ^b	11,533 ^b	245

¹Abbreviation: NC, Basal diet; A-2, Basal diet + 0.5% A-2; A-3, Basal diet + 0.5% A-3; A-18, Basal diet + 0.5% A-18.

²Standard error of means.

▶ **Solvita kit 부숙도 측정**

- 슬러리 내 부숙도 측정은 Solvita kit를 사용한 기계적 측정법으로서 각 보라색(CO₂) 및 노란색(NH₃)의 Plastic paddle를 샘플 안 시료에 꽂아 넣어 일정한 시간이 지난 뒤에 빼서 Solvita kit를 사용하여 CO₂ 및 NH₃ 농도를 표시하였음
- 이유자돈 사료 내 미생물 사료 제품 첨가가 이유자돈의 Solvita kit 부숙도 측정에 미치는 영향은 표 47에 나타내었음
- 육성돈 사료 내 미생물 사료 제품 첨가가 육성돈의 Solvita kit 부숙도 측정에 미치는 영향은 표 48에 나타내었음
- 모든 처리구가 부숙후기 상태로 유의적인 차이는 없었음($p>0.05$)

표 47. The effect of dietary antibiotic and microorganism supplementation on maturity Index in weaning pigs¹

Items	NC	PC	A-2	A-5	SEM ²
Week 6					
NH ₃	4.62	4.62	4.65	4.64	0.02
CO ₂	5.34	5.35	5.30	5.32	0.03
Maturity Index	부숙후기	부숙후기	부숙후기	부숙후기	-

¹Abbreviation: NC, Basal diet; PC, Basal diet + 0.1% 암피더블산; A-2, Basal diet + 0.1%A-2; A-5, Basal diet + 0.1%A-5

²Standard error of means

표 48. The effect of dietary antibiotic and microorganism supplementation on maturity Index in growing pigs¹

Items	NC	A-2	A-3	A-18	SEM ²
Week 10					
NH ₃	4.50	4.09	4.01	4.21	0.41
CO ₂	6.19 ^a	5.12 ^b	5.76 ^{ab}	5.17 ^b	0.54
Maturity Index	부숙후기	부숙후기	부숙후기	부숙후기	-

¹Abbreviation: NC, Basal diet; A-2, Basal diet + 0.5% A-2; A-3, Basal diet + 0.5% A-3; A-18, Basal diet + 0.5% A-18.

²Standard error of means

▶ **혈액 특성**

- 시험 종료 시 경정맥에서 EDTA가 처리된 vacutainer tube과 separate serum tube를 이용하여 각각 5 mL씩 채취하였음. 혈구는 혈구자동분석기 (HEMAVET, Drew Scientific Inc., Oxford, CT)를 사용하여 WBC, RBC, Hb, Hct, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil을 분석하였음. 또한

분리된 혈청은 cytokine의 농도를 상업용 IL-1 β , IL-6, TNF- α ELISA test kit(R & D, USA)를 이용하여 측정하였음

- 이유자돈 사료 내 미생물 사료의 급여가 이유자돈의 혈액 특성에 미치는 영향은 표 49에 나타내었음
- 육성돈 사료 내 미생물 사료의 급여가 육성돈의 혈액 특성에 미치는 영향은 표 50에 나타내었음
- 시험 종료 시 (이유자돈 6주, 육성돈 10주) 혈액 내 WBC, RBC, Hb, Hct, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil, TNF- α 및 IL-1 β 의 수치에 있어 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았음 ($p > 0.05$)

표 49. The effect of dietary antibiotic and microorganism supplementation on blood profile in weaning pigs¹

Items	NC	PC	A-2	A-5	SEM ²
Week 6					
WBC, 10 ³ / μ l	22.15	19.93	17.50	20.50	1.99
RBC, 10 ⁶ / μ l	6.72	7.06	6.50	6.93	0.21
Hb, g/dL	8.88	10.18	9.16	9.96	0.42
Hct, %	43.48	46.53	43.22	44.78	1.50
Lymphocyte, %	28.98	31.28	33.00	30.92	1.81
Monocyte, %	6.73	7.70	7.92	5.18	0.99
Eosinophil, %	1.65	1.28	2.30	2.18	0.43
Basophil, %	0.98	1.68	1.04	1.18	0.27
TNF- α (pg/ul)	58.9	54.1	72.3	65.5	7.71
IL-1 β (pg/ul)	25.4	19.8	34.8	37.3	3.04

¹Abbreviation: NC, Basal diet; PC, Basal diet + 0.1% 암피더블산; A-2, Basal diet + 0.1%A-2; A-5, Basal diet + 0.1%A-5

²Standard error of means

표 50. The effect of dietary antibiotic and microorganism supplementation on blood profile in growing pigs¹

Items	NC	A-2	A-3	A-18	SEM ²
Week 10					
WBC, 10 ³ / μ l	16.08	19.69	19.00	16.35	0.58
RBC, 10 ⁶ / μ l	6.35	6.58	6.83	7.04	0.09
Hb, g/dL	12.23	12.10	11.55	13.00	0.19
Hct, %	47.83	48.78	48.68	51.78	0.59
Segment, %	41.75	41.58	43.38	42.93	1.26
Lymphocyte, %	45.43	46.50	47.27	45.40	1.03
Monocyte, %	3.98	4.23	4.60	3.77	0.17
Eosinophil, %	1.53	1.83	1.90	1.77	0.11
Basophil, %	0.03	0.00	0.00	0.03	0.01
TNF- α (pg/ul)	111	116	119	117	1.32
IL-6 (pg/ul)	1,042	1,176	1,268	998	64.88
IL-1 β (pg/ul)	951	675	775	889	53.73

¹Abbreviation: NC, Basal diet; A-2, Basal diet + 0.5% A-2; A-3, Basal diet + 0.5% A-3; A-18, Basal diet + 0.5% A-18.

²Standard error of means

▶ 통계처리

- 모든 자료는 SAS (2013)의 General Linear Model procedure를 이용하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 처리하여 평균 간의 유의성을 검정하였음 ($p < 0.05$)

▶ 미생물 사료의 효과 분석 종합 의견

- 미생물 사료 제품의 품질평가 결과 30개 제품 중 등록사항과 일치하는 제품은 22개(A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-7, A-10, A-11, A-12, A-13, A-17, A-18, A-19, A-20, A-21, A-22, A-23, A-24, A-25, A-26, A-28, A-29, A-30)로 평가되었으며, 이들 22개 제품에 대한 효능평가(*in vitro*) 결과, 제품 안정성 지표인 내열성 및 장내 생존능과 관련된 내산성, 내담즙성, 그리고 제품 안전성과 관련된 항생제내성, 곰팡이 독소, 유해미생물, 또한 제품 기능성과 관련된 항균활성능, 세포활성능에서 제품별로 유의적인 차이를 보이는 것을 확인하였음.
- 돼지를 이용한 *in vivo* 효능평가를 수행결과에서는 A-2제품과 A-3제품에서 양돈 약취관련 물질인 암모니아가 유의적으로 감소하는 경향을 확인할 수 있었음. 그러나 그 외 *in vivo* 효능평가 결과에서 유의적인 차이를 확인하지 못했는데, 이는 실험목장이라는 특수한 환경에서 비교적 단 기간에 실험 결과로서 현장 상황을 충분히 반영한 결과를 도출하기 어려울 것으로 판단되며 장시간의 미생물 사료 적용과 평가가 필요함을 시사함

○ 미생물 사료에 대한 현장실증 평가 (양돈)

- 미생물 사료에 대한 *in vivo* 효능 평가의 경우 제약된 환경과 짧은 시간 안에 실험이 종료되기 때문에 미생물 사료의 효과가 현장에서의 결과와 상이할 수 있으며, 미생물 사료에 대한 효과를 도출하기 어려운 면이 있으므로 미생물 사료를 농장에 6개월 이상 꾸준히 미생물 사료를 투입하고 결과를 도출하고자 하였음
- 현장 실증 평가는 5개 상업용 양돈 농가를 대상으로 미생물 사료를 기본 사료 내 권장량의 5배를 첨가하여 6개월간 적용하고 그 효능을 평가하였음 (표 51)

표 51. 상업용 양돈 농가 정보

농가명	사육규모(두)	사료첨가용 미생물제제	사육형태	축사 시설
JC	1,500	A-2	육성비육	반슬랏, 원치/액비 발효, 자체처리, 안개분무시설
JS	1,600	A-2	비육	전면슬랏, 무창/분뇨위탁처리, 안개분무시설
PJW	1,600	A-2	비육	전면슬랏 무창/분뇨위탁처리, 안개분무시설
KH	3,500	A-3	일괄사육	전면슬랏, 무창, 안개분무시설
NS	100	A-3	일괄사육	평바닥, 개방식/부숙후 퇴비

▶ 약취 저감 효과 분석

- 약취 저감 효과를 분석하기 위한 약취측정은 미생물제제 적용 전, 적용 후 3개월, 적용 후 6개월 등 3차례에 걸쳐 수행하였으며, 돈사 내부 입구, 중간, 끝 세 부분으로 나누어 슬러리 피트를 기준으로 1m 높이에서 에어 샘플을 포집하고 환경부 시험분석공인인증기관에서 16종의 공인 지정약취 물질을 분석하였음 (그림 27, 표 52)



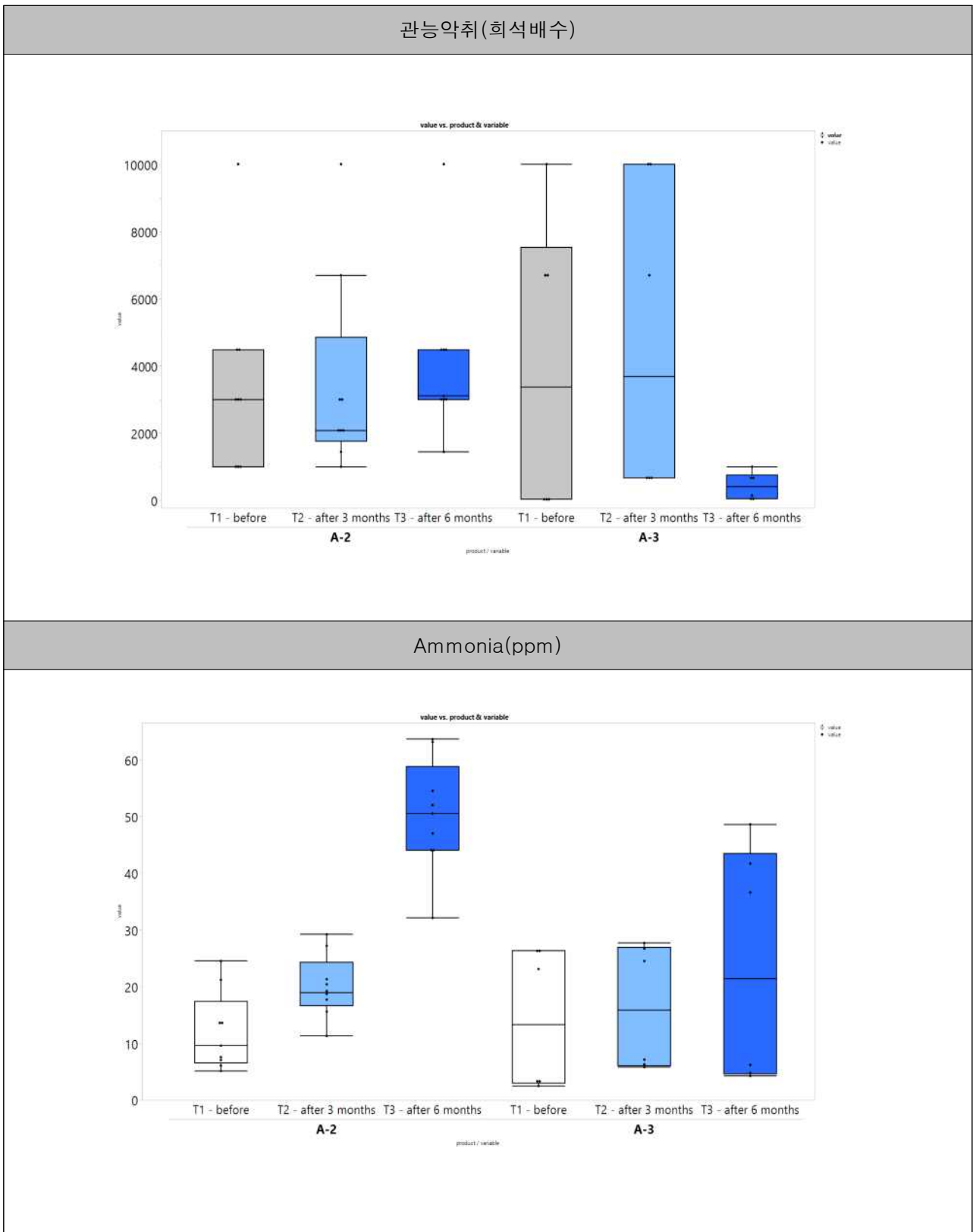
그림 27. 돈사 내부 에어샘플 분석 및 샘플포집 과정 설명

표 52. 공인 지정악취 분석 목록

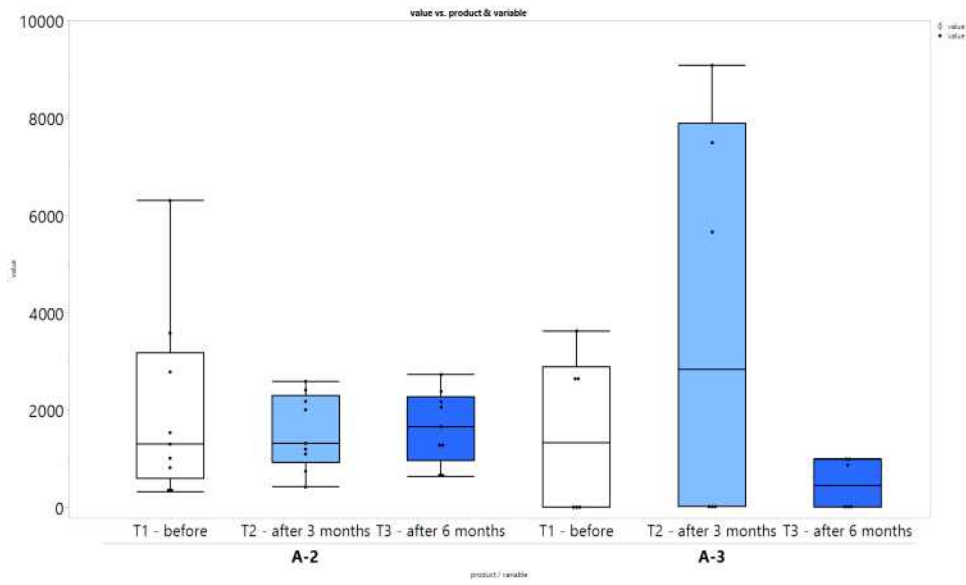
연번	구분	악취물질	측정단위
1	복합악취	관능악취	희석배수
2	암모니아	Ammonia	ppm
3	황 화합물류	Hydrogen sulfide	ppb
4		Methyl mercaptan	ppb
5		Dimethyl sulfide	ppb
6		Dimethyl disulfide	ppb
7	휘발성 지방산류	Acetic acid	ppb
8		Propionic acid	ppb
9		i-Butyric acid	ppb
10		Butyric acid	ppb
11		i-Valeric acid	ppb
12		Valeric acid	ppb
13	페놀류	Phenol	ppb
14		p-Cresol	ppb
15	인돌류	Indole	ppb
16		Skatole	ppb

▶ 약취 저감 효과 분석 결과

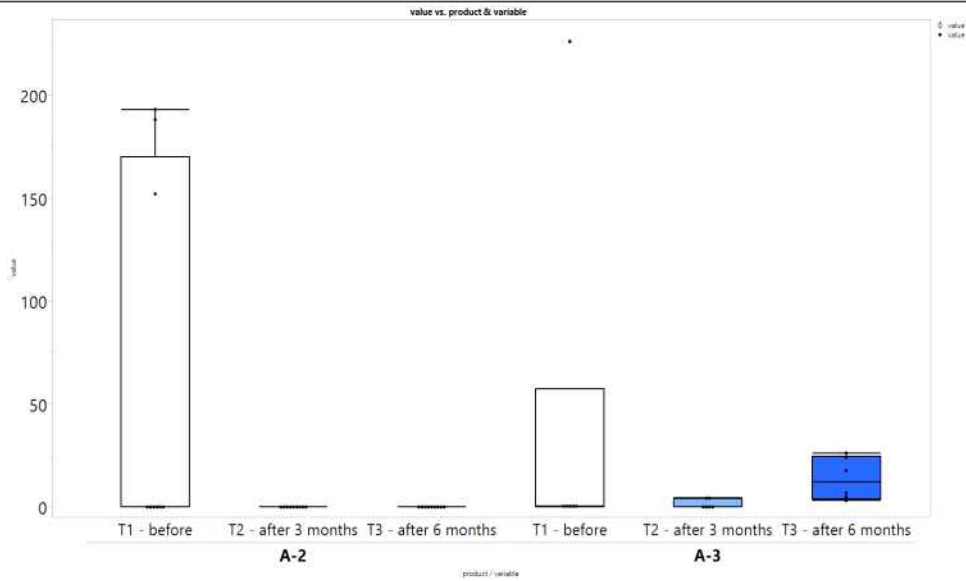
- A-2 제품의 경우 미생물 사료 적용 후 휘발성 지방산류인 Acetic acid 83.5%, Propionic acid 91.7%, i-Butyric acid 88.1%, Butyric acid 90.1%, i-Valeric acid 84.5%, Valeric acid 91.8% 유의적으로 감소하였으며, 페놀류인 Phenol과 p-Cresol 역시 각각 76.3%, 80% 유의적으로 감소하였음. 반면에 A-3 제품의 경우 약취물질의 유의적 증감을 확인할 수 없었음. 또한 A-2 제품의 경우 미생물 사료 적용 후 ammonia가 317% 증가하였음($P < 0.05$)
- 위 결과를 통하여 미생물 사료 적용 시 휘발성 지방산과 페놀류 약취 저감 효과를 확인할 수 있었으며, 제품별로 약취 저감 효과에 차이를 확인할 수 있었음 (그림 29)



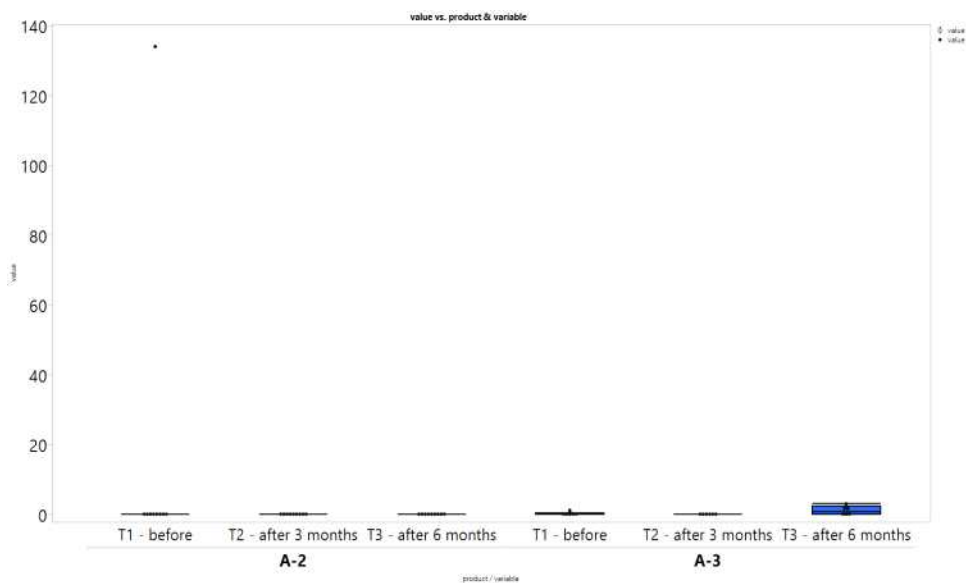
Hydrogen sulfide(ppb)



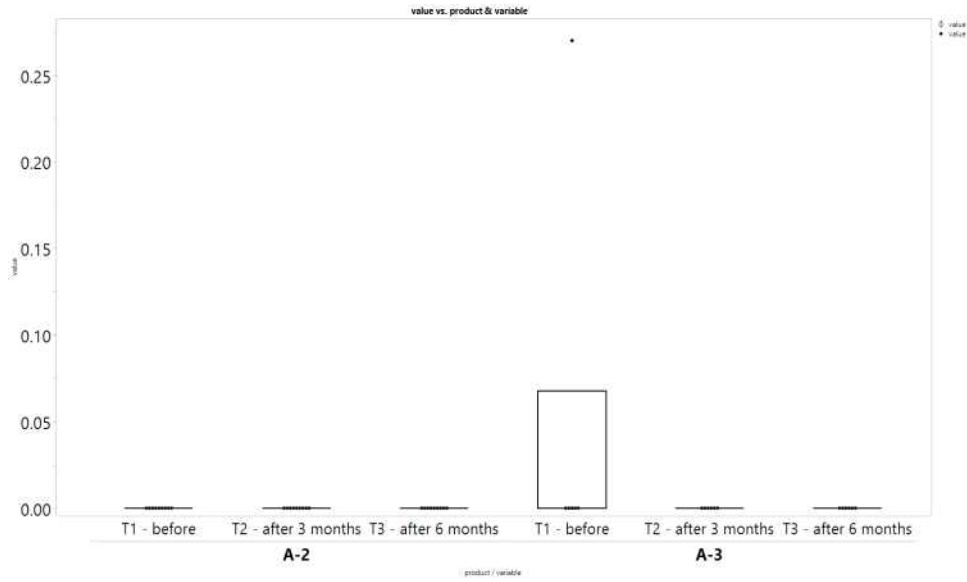
Methyl mercaptan(ppm)



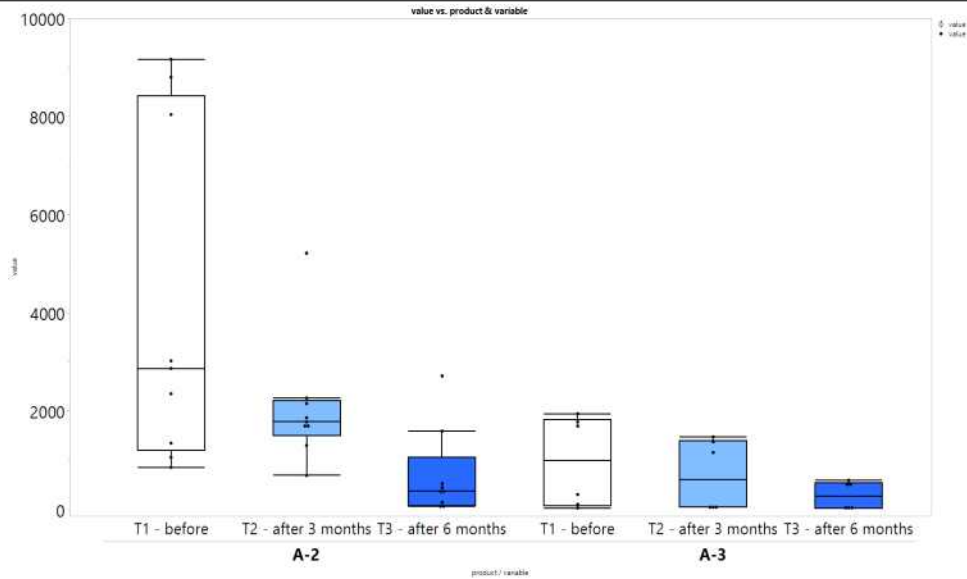
Dimethyl sulfide



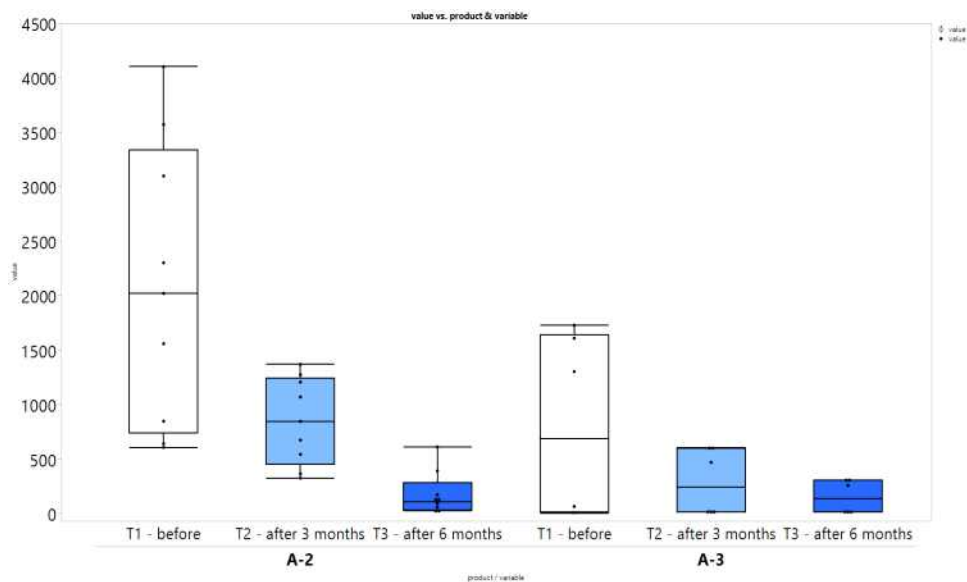
Dimethyl disulfide



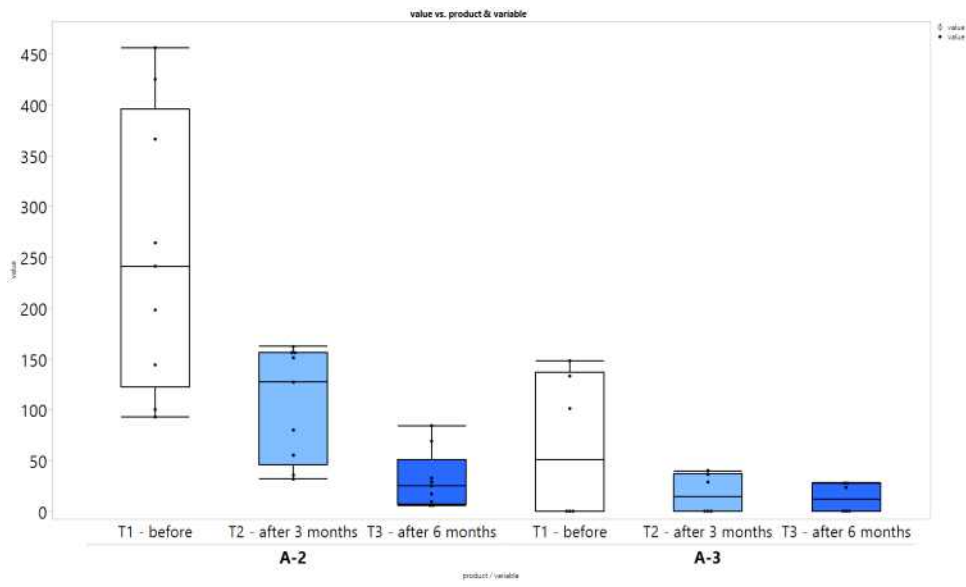
Acetic acid



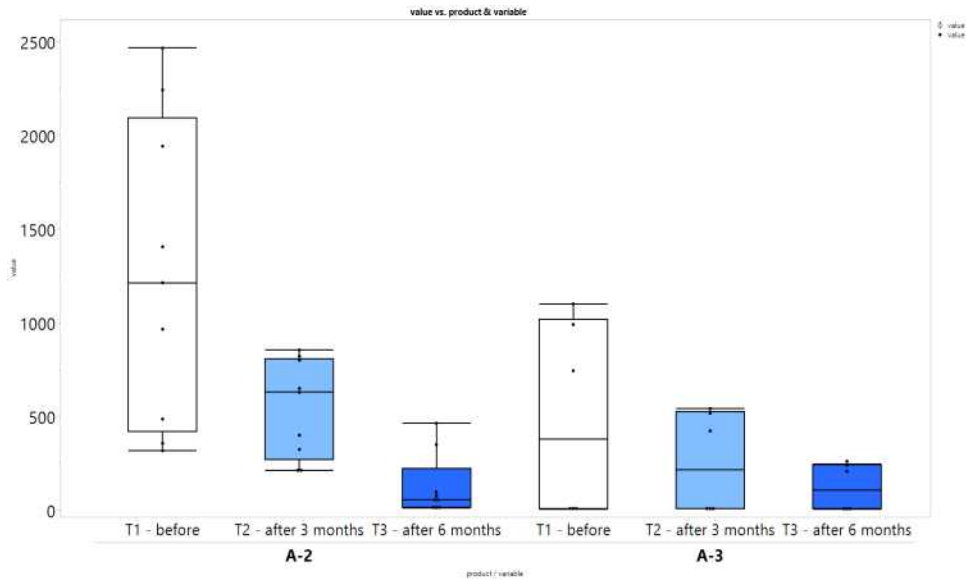
Propionic acid



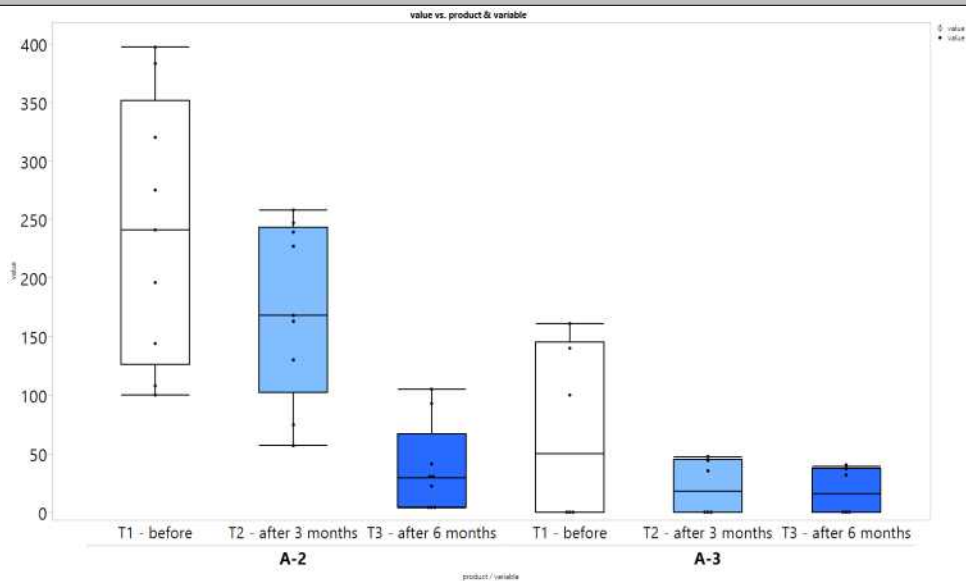
i-Butyric acid



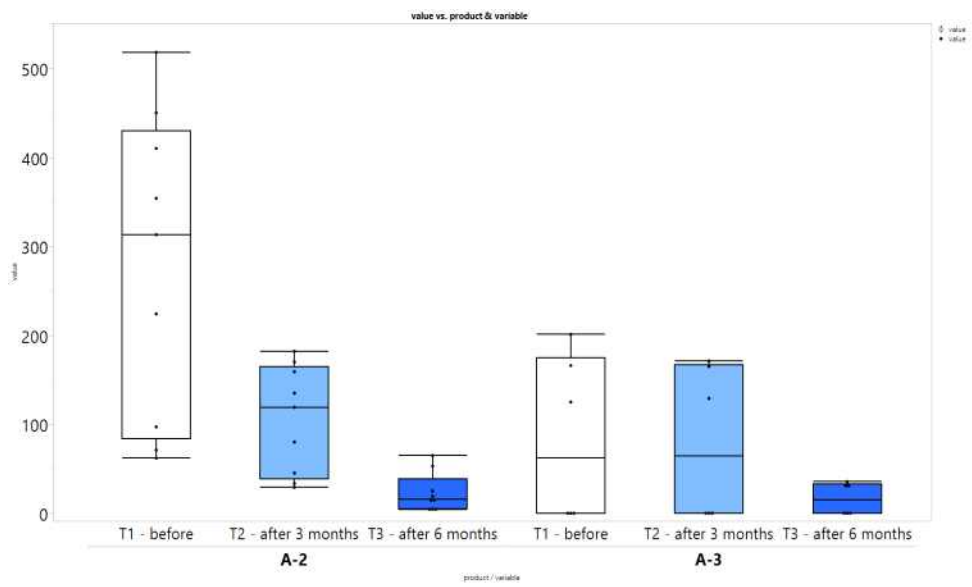
Butyric acid



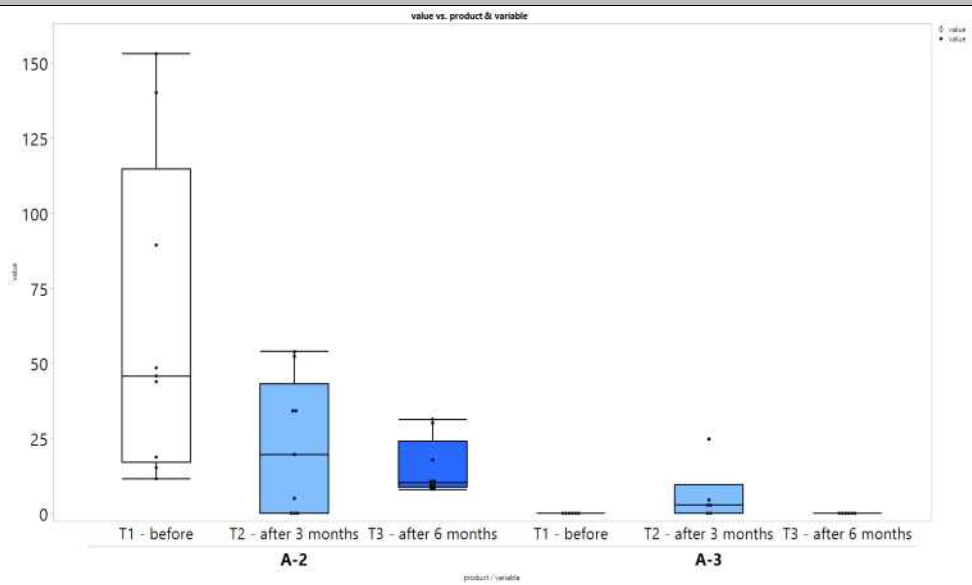
i-Valeric acid



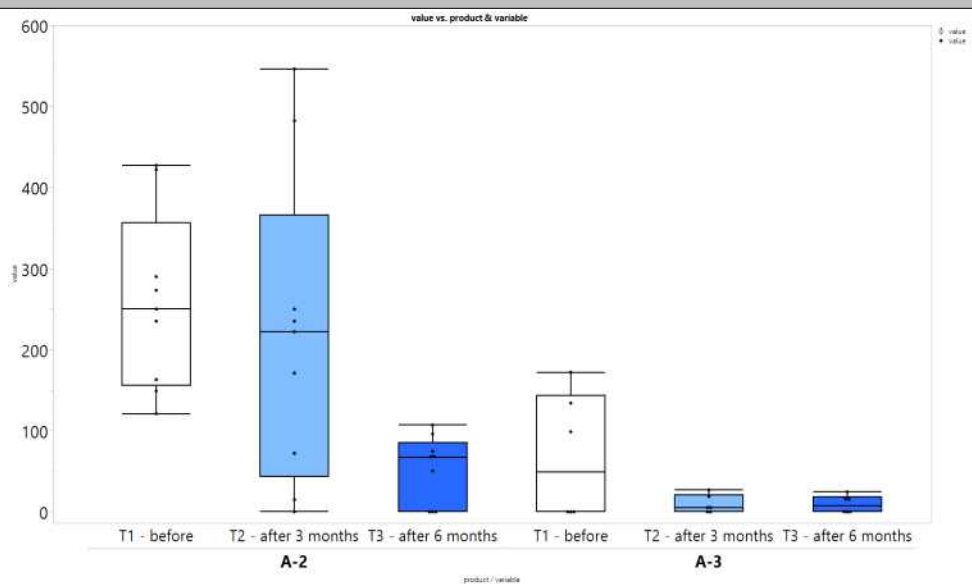
Valeric acid



Phenol



p-Cresol



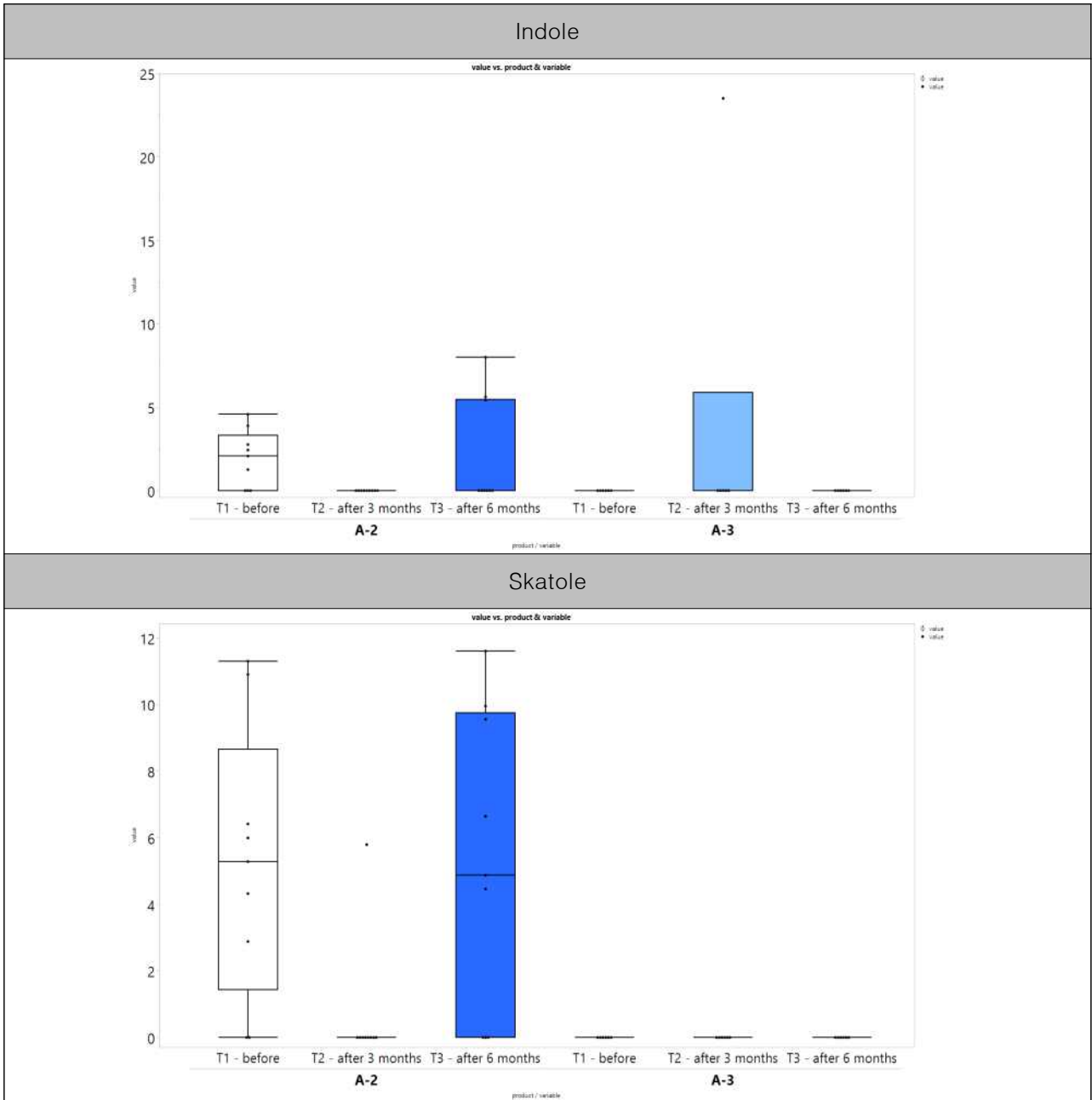


그림 29. 미생물 적용 전후 돈사내 공인악취 물질의 농도 변화

▶ 생산성 분석 결과

- A-2 제품을 적용한 농가에 육성율에는 2% 정도 증가하였으나 큰 차이를 보이지는 않았음
- 사료 요구율은 평균 3.16에서 2.87로 9.18% 개선되었음을 확인함 (표 53). 이를 통하여 미생물제제가 장내 사료의 소화 효율을 높임으로써 사료 요구율을 개선할 수 있었던 것으로 사료됨
- 이러한 결과에 따라 미생물 사료의 품질평가 및 효능평가(*in vitro*, *in vivo*)와 함께 농가 대상 현장 실증 평가를 병행하는 방안을 제안함

표 53. 미생물 적용 전후 생산성 지표 분석

농가명	CJS		PJW		PJC	
	육성율(%)	사료요구율	육성율(%)	사료요구율	육성율(%)	사료요구율
미생물제제 적용 전	93.5	3.14	93.6	3.18	96.9	-
미생물제제 적용 후	97.4	2.84	93.7	2.9	97.4	-

◆ 육성율(%) = 출하두수 / 이유두수 X 100
 ◆ 사료요구율 = 사료섭취량(kg) / 증체량(kg)

(1-5) 미생물제제 평가 기준(안)

□ 미생물 비료의 평가 기준(안)

○ 1단계: 품질평가

▶ 제품등록사항 평가

- 미생물 생균수 측정: 제품의 등록기준과 일치여부를 확인하며, 불일치 시 부적합 제품으로 평가
- 미생물 동정 분석: 제품의 등록기준과 일치여부를 확인하며, 불일치 시 부적합 제품으로 평가

○ 2단계: 효능평가 (*in vitro*)

▶ 작물 생육촉진 효능 평가

- 인산가용화능, 질소고정능, IAA 측정 등

○ 3단계: 효능평가 (*in vivo*)

▶ 작물 생육도 평가

- 생중량, 엽록소(Chlorophyll) 함량, 엽장, 엽폭, 엽병 등

▶ 토양개선 평가

- pH, 치환성 양이온 (K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺), 유효인산 등

□ 미생물 농약의 평가 기준(안)

○ 1단계: 품질평가

▶ 제품등록사항 평가

- 미생물 생균수 측정: 제품의 등록기준과 일치여부를 확인하며, 불일치 시 부적합 제품으로 평가
- 미생물 동정 분석: 제품의 등록기준과 일치여부를 확인하며, 불일치 시 부적합 제품으로 평가

○ 2단계: 효능평가 (*in vitro*)

▶ 항균활성 분석

- 식물병원성 진균 항균활성 등

○ 3단계: 효능평가 (*in vivo*)

▶ 작물 생육도 평가 (작물별)

- 병반 크기, 병 발병여부 관찰, 작물 생중량, 건중량, 생육크기 등

□ 미생물 사료의 평가 기준(안)

○ 1단계: 품질평가

▶ 제품등록사항 평가

- 미생물 생균수 측정: 제품의 등록기준과 일치여부를 확인하며, 불일치 시 부적합 제품으로 평가
- 미생물 동정 분석: 제품의 등록기준과 일치여부를 확인하며, 불일치 시 부적합 제품으로 평가

○ 2단계: 효능평가 (*in vitro*)

▶ 안정성 분석

- 내열성, 장내 생존능(내산성, 내담즙성) 등

▶ 안전성 분석

- 곰팡이독소, 유해미생물 등

▶ 기능성 분석

- 항균활성능 등

○ 3단계: *in vivo* 효능평가 및 현장실증

▶ 동물 생육도 평가

- 증체량, 사료섭취량, 사료효율 등

▶ 환경개선 평가

- 부숙도, 악취저감 등

(1-6) 미생물제제 평가 매뉴얼

구분		실험항목	목적 및 필요성	참고 문헌	비고
품질 평가	공통	총균수 측정	미생물 정량평가 지표	농촌진흥청 고시 비료의 품질검사 방법 및 시료채취 기준 ¹⁾ 농림축산식품부고시 사료 등의 기준 및 규격 ²⁾	국가공인 시험방법
		동정	미생물 정성평가 지표	농촌진흥청 고시 비료의 품질검사 방법 및 시료채취 기준 ¹⁾	국가공인 시험방법
미생물 비료	<i>In vitro</i> (작물 생육 촉진)	인산가용화	난용성 인산 가용화 (식물 성장 관련 지표)	Pikovskaya, 1948 ³⁾	자체 실험
		질소고정	질소 환원 (식물 성장 관련 지표)	Baldani et al., 2014 ⁴⁾	자체 실험
		IAA (Indole-3-acetic acid)	식물성장 호르몬 (식물 성장 관련 지표)	Rahman et al., 2010 ⁵⁾	자체 실험
	<i>In vivo</i> (작물 생육 촉진)	상부길이, 생중량, 건중량	작물의 생육도 측정 지표	농촌진흥청 고시 비료의 품질검사 방법 및 시료채취 기준 ¹⁾	국가공인 시험방법
		엽장, 엽폭, 엽병	작물의 생육도 측정 지표		
		엽록소 함량	작물의 신진대사 및 성장 관련 지표	Samaniego-Gómez et al., 2016 ⁶⁾	자체 실험
	<i>In vivo</i> (토양 개선)	pH측정	물질이동 및 작물 생육 관련 지표	농촌진흥청 국립농업과학원, 2010 ⁷⁾	국가공인 시험방법
		치환성 양이온	뿌리발육, 신진대사 관련 지표		
		유효인산	생육초기 성장 관련 지표		
		총 질소 측정	세포분열과 증식 관련 지표		
미생물 균양	<i>In vitro</i> (작물 병해 억제)	작물 항균능	식물병원균 억제 측정 지표	NCCLS Method ⁸⁾	국제공인 시험방법
		<i>In vivo</i> (작물 병해 억제)	작물적용 항균능	배추 균핵병 및 토마토 풋마름병 억제 효과 측정 지표	농촌진흥청 고시 농약의 등록시험 기준과 방법 ⁹⁾
				고추 탄저병 억제 효과 측정 지표	Xu et al., 2021 ¹⁰⁾
사료 첨가제	<i>In vitro</i> (안정성)	장내생존능 (내산성, 내담즙성, 장내정착능), 내열성	산업동물의 장내 건강 및 제품 안정성 지표	Ling and Shah, 2005 ¹¹⁾ Kim et al., 2008 ¹²⁾	자체 실험
		<i>In vitro</i> (안전성)	항생제 내성	제품 및 산업동물의 건강 관련 안전성 지표	EFSA ¹³⁾
	곰팡이 독소, 유해 미생물 검출		농림축산식품부고시 사료 등의 기준 및 규격 ²⁾		국내공인 시험방법
	<i>In vitro</i> (기능성)	동물세포 활성화	산업동물의 강건성 및 생산성 개선 관련 기능성 지표	Jang et al., 2021 ¹⁴⁾	자체 및
		축산 항균능		NCCLS Method ⁸⁾	국제공인 시험방법
	<i>In vivo</i> (사양 실험)	양계 (생산성, 육질, 소화장관 길이 및 형태학적 지표, 장내 미생물 균총, 혈액분석, 혈청내 생화학분석, 악취측정)	양계의 생산성 개선 관련 지표	Lee et al., 2022 ¹⁵⁾ Moon et al., 2021 ¹⁶⁾	자체 실험
			양계의 환경 개선 관련 지표	GASTEC 검지관 ¹⁷⁾	자체 실험
		양돈 (생산성, 혈구분석, 사이토카인분석, 부속도 측정, 악취측정)	양돈의 생산성 개선 관련 지표	Park et al., 2020 ¹⁸⁾	자체 실험
			양돈의 환경 개선 관련 지표	GASTEC 검지관 ¹⁷⁾	자체 실험
				농촌진흥청 고시 비료의 품질검사 방법 및 시료채취 기준 ¹⁾	국가공인 시험방법

- 1) 농촌진흥청 고시 비료의 품질검사방법 및 시료채취기준 [별표1] 비료의 이화학적 검사방법
- 2) 농림축산식품부고시 사료 등의 기준 및 규격 [별표 25] 사료표준분석방법(제13조 관련)
- 3) R.I. Pikovskaya, Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species, Mikrobiologiyal 7. 1948;362-370.
- 4) Baldani, J.I., Reis, V.M., Videira, S.S., Boddey, L.H. and Baldani, V.L.D. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists, Plant and Soil. 2014;384:413-431.
- 5) Rahman, A., Sitepu, I. R., Tang, S.-Y. and Hashidoko, Y. Salkowski's Reagent Test as a Primary Screening Index for Functionalities of *Rhizobacteria* Isolated from Wild Dipterocarp Saplings Growing Naturally on Medium-Strongly Acidic Tropical Peat Soil, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2010;74(11):2202-2206
- 6) Samaniego-Gómez, B. Y., Garruña, R., Tun-Suárez, J. M., Kantun-Can, J., Reyes-Ramírez, A., and Cervantes-Díaz, L. *Bacillus* spp. inoculation improves photosystem II efficiency and enhances photosynthesis in pepper plants. Chilean Journal of Agricultural Research. 2016;76(4):409-416.
- 7) 농촌진흥청 국립농업과학원, “토양화학분석법”, 2010
- 8) NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards) Method, M02-A12, M38-P
- 9) 농촌진흥청 고시 농약의 등록시험 기준과 방법 [별표4] 약효시험의 기준과 방법
- 10) Xu, Y., Wang, L., Liang, W. and Liu, M. Biocontrol potential of endophytic *Bacillus velezensis* strain QSE-21 against postharvest grey mould of fruit. Biological Control. 2021;161:104711
- 11) Liong, M. and Shah, N. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. Journal of dairy science. 2005; 88(1):55-66.
- 12) Kim, S.-J., Cho, S.Y., Kim, S.H., Song, O.-J., Shin, I.-S., Cha, D.S., Park, H. J., Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. LWT-Food Science and Technology. 2008; 41(3):493-500.
- 13) EFSA(European Food Safety Authority), Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms
- 14) Jang, H.-J., Son, S., Kim, J.-A., Jung, MY., Choi, Y.-J., Kim, D.-H., Lee, HY., Shin, D., and Kim Y. Characterization and Functional Test of Canine Probiotics. Frontiers in Microbiology. 2021;12:625562
- 15) Lee, W.-D., Kothari,D., Moon, S.-G., Kim, J., Kim, K.-I., Ga, G.-W., Kim, Y.-G., Kim, S.-K. Evaluation of Non-Fermented and Fermented Chinese Chive Juice as an Alternative to Antibiotic Growth Promoters of Broilers. Animals 2022;12:2742
- 16) Moon. S.-G., Kothari,D., Kim, W.-L., Lee, W. -D., Kim, K.-I., Kmi, J. -I., Kim, E. -J and Kim, S.-K. Feasibility of sodium long chain polyphosphate as a potential growth promoter in broilers. J Anim Sci Technol 2021;63(6):1286-1300
- 17) GASTEC Detector tube, www.gasteckorea.co.kr
- 18) Park, J.-H., Sureshkumar, S., Kim, IH., Influences of dietary flavonoid (quercetin) upplementation on growth performance and immune response of growing pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide, J Anim Sci Technol. 2020;62(5):605-613

□ 품질평가

○ 미생물 총균수 측정

- 기구 및 시약

클린벤치, 고압멸균기, 균질기, 배양기, 교반기, 알코올램프, pipet, spreader, 멸균 생리식염수(saline), 배지

- 평가방법

- 1) 시료 3g을 취하여 멸균 생리식염수(saline) 27g에 넣고 희석 및 혼합 후 20분간 상온에서 정치배양을 수행한다.
- 2) 시료 희석액 1ml을 9ml의 멸균 생리식염수(saline)에 넣어 10진 희석법(serial dilution)으로 희석하고 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 등 적정량의 희석 샘플 $100\mu\text{l}$ 를 미생물 적정배지에 도말한다.
(기본배지, *Bacillus* sp. : NA / *Lactobacillus* : MRS / yeast: YGC / 광합성균: R2A)
- 3) 미생물별 적정 온도의 배양기에서 20~24시간 배양한다.
- 4) 20~300개의 단일균주(colony)가 확인되는 agar plate의 colony를 계수한다.
- 5) 총균수 계산식에 대입하여 CFU(Colony Forming Unit) 계산한다.

- 계산법

총균수 (CFU/mL) = colony 집락수 x 희석배수 x 10

○ 미생물 분리 및 동정

- 기구 및 시약

클린벤치, 균질기, 배양기, 교반기, pipet, 액상배지, primer, PCR 용 pre mixture 시약(dNTP, polymerase enzyme), 유전자분석 전용 장비

- 평가방법

- 1) 총균수 측정을 위하여 분리한 미생물 colony를 무작위(random)로 선별하여 적정 액체배지에 접종하고 적정온도에서 20 ~ 24 시간 배양한다.
- 2) 세균의 경우 16S rRNA, 진균의 경우 ITS 유전자 부위의 primer 및 PCR용 pre mixture 시약을 사용하여 PCR 증폭을 수행하고 유전자분석 전용 장비를 이용하여 유전자 분석을 수행한다.

□ 작물생육 촉진용 미생물 제제(미생물 비료) 효능평가(*in vitro*)

○ 인산가용화능(phosphate solubilizing) 평가

- 기구 및 시약

클린벤치, 고압멸균기, 균질기, 배양기, 교반기, 초 순수제조장치, 핀셋, pipet, petri dish, 메스실린더, 알코올램프, 멸균수, Pikovskaya(PVK) agar 배지, paper disc, 클린랩

- 시약제조방법

• Pikovskaya(PVK) agar 배지

- 1) Yeast extract 0.5 g, Glucose 10 g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, KCl 0.2 g, MgSO_4 0.1 g, MnSO_4 0.0001 g, FeSO_4 0.0001 g, Agar 15 g을 증류수에 용해시킨 후 메스실린더를 이용하여 최종 부피를 1 L로 맞춘다.
- 2) 만들어진 배지를 고압멸균기를 이용하여 121 °C, 15 min 정도 멸균시켜준다.
- 3) 배지를 식히고 plate에 20 ml 정도씩 분주한 후, 뚜껑을 조금 열어 굳혀준다.
- 4) 완성된 배지는 lab으로 감싸 4 °C에서 보관한다.

- 평가방법

- 1) 준비된 Pikovskaya(PVK) agar 배지에 8mm paper disc를 핀셋으로 치상하여 준다.
- 2) 치상된 paper disc 위에 시료와 positive control인 인산가용화 양성반응 보유균주(*Lactobacillus* spp., 1.0×10^6 CFU/mL 이상) 배양액, negative control은 멸균수를 pipet으로 각각 20 μl 씩

떨어뜨려 준다.

- 3) 미생물 적정 온도에서 5 ~ 10일 동안 배양 후 접종 주위의 clear zone 여부로 난용성 인산 가용화능을 판별한다.

○ 질소고정능(Nitrogen Fixation) 평가

- 기구 및 시약

클린벤치, 고압멸균기, 균질기, 배양기, 교반기, 초 순수제조장치, pipet, 시험관, 메스실린더, 알코올램프, 멸균수, Nfb(Nitrogen free broth) 배지

- 시약제조방법

- Nfb(Nitrogen free broth) 배지

- 1) Malic acid 5g, K_2HPO_4 0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g, NaCl 0.1g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.02g, Micronutrient solution 2ml, Bromothymol blue 2ml, FeEDTA 4ml, Vitamin solution 1ml, KOH 4.5g, agar 1.8g을 증류수에 용해시킨 후 메스실린더를 이용하여 최종 부피를 1 L로 맞춘다.
- 2) 만들어진 배지를 고압멸균기를 이용하여 121 °C, 15 min 정도 멸균시켜준다.
- 3) 배지를 식히고 시험관에 5mL씩 분주한 후, 굳혀준다.

- 평가방법

- 1) 준비된 Nfb(Nitrogen free broth) 배지 5 ml에 시료를 20 μ l를 중앙에 주입하여 접종한다.
- 2) Positive control은 질소고정능 양성반응 보유균주(*Azotobacter chroococcum* KACC 11805, 1.0×10^6 CFU/ml 이상), negative control은 멸균수를 20 μ l를 접종한다.
- 3) 접종 후 각 배지는 등온 균주의 적정 온도에서 5 ~ 10일 동안 정치배양한다.

- 판별방법

- 1) 질소의 형태 변화에 따라 변화된 pH로 색이 변화되며, 푸른색을 띠는 경우 양성반응으로 판별한다.

○ IAA(Indole-3-acetic acid) 측정

- 기구 및 시약

클린벤치, 교반기, 초 순수제조장치, pipet, 시험관, 메스실린더, 알코올램프, 원심분리기, 멸균수, 황산, 증류수, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$

- 시약제조방법

- Salkowski test 시약

- 1) 증류수 250 ml에 95 % H_2SO_4 150 ml를 혼합한 후 냉각시켜준다.
- 2) 황산 희석액에 1.5M $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 7.5 ml를 혼합하여 조제한 후 냉각하여 사용한다.

- 평가방법

- 1) 미생물 배양액을 원심분리기를 이용하여 10,000 rpm, 10 min 동안 원심분리 후 상등액을 취한다.
주1) 시료의 형태가 분말일 경우 멸균수를 이용하여 10배 희석 후 원심분리 하여 상등액을 취함
- 2) 준비된 시료 1 ml에 Salkowski test 시약을 2 mL 첨가한다.
- 3) Positive control은 IAA측정 양성반응 보유균주(*Acinetobacter guillouiae* KACC 18104, 1.0×10^6 CFU/mL 이상), negative control은 증류수를 접종한다.
- 4) 혼합 용액은 빛을 차단한 후 상온에서 30 min 동안 반응시킨다.

- 판별방법

- 1) 혼합 용액의 색이 분홍색으로 변할 경우 양성반응으로 판별한다.

□ 작물 병해 억제용 미생물 제제(미생물 농약) 효능평가(*in vitro*)

○ 식물병원성 진균에 대한 항균능 평가

- 기구 및 시약

클린벤치, 균질기, 배양기, 교반기, 초 순수제조장치, 핀셋, pipet, petri dish, 알코올램프, 멸균수, 배지, spreader

- 시약제조방법

- 1) 식물병원성 진균을 배양하는 PDA배지를 만든다.
- 2) 만들어진 배지를 고압멸균기를 이용하여 121 °C, 15 min 정도 멸균시켜준다.
- 3) 배지를 식히고 plate에 20 mL 정도씩 분주한 후, 뚜껑을 조금 열어 굳혀준다.

- 평가방법

- 1) 식물병원성 진균을 7mm펀치로 뚫어 준비된 PDA 배지에 1조각을 치상한다.
- 2) 병원균을 중심으로 3면에 5mm paper disc를 핀셋으로 치상하여 주고 paper disc 위에 시료와 positive control인 항생제, negative control은 멸균수를 pipette으로 각각 20 μ l씩 떨어뜨려 준다.
- 3) 25°C 배양기에서 3~5일간 배양을 수행한다.

- 판별방법

- 1) 병원성 진균의 균사 성장 억제여부로 항균능을 판별한다.

□ 작물생육 촉진용 미생물 제제(미생물 비료) 효능평가(*in vivo*)

- 기구 및 시약

온실, 배양기, 고압멸균기, 초 순수제조장치, 9 cm petri dish, filter paper, 증류수, 상토, 종자, 모종판

- 종자준비

- 1) 9 cm petri dish에 filter paper를 올리고 멸균증류수 3 ml를 넣은 후 씨앗을 올린다.
- 2) 배양기에서 25 °C, 3일간 발아시킨다.

- 토양준비

- 1) 각 시료(미생물 비료)에 맞는 권장 사용량을 상토 800g과 물 350ml과 섞은 뒤, 지름 9 cm의 pot에 넣어 정식 토양을 준비한다.

- 평가방법

- 1) 모종을 모종판으로 옮겨 심은 뒤 22 ~ 26 °C 온실에서 1주일간 키운다.
- 2) 준비된 처리 토양에 유묘(고추, 배추, 토마토 등)를 옮겨 심는다.
- 3) 파종한 날로부터 4주차에 정성, 정량 평가를 수행한다.

○ 생중량 및 건조량 측정

- 기구 및 시약

가위, 저울, 오븐

- 평가방법

- 1) 미생물 비료 적용 후 실험 종료 작물 샘플의 상부를 가위로 잘라 상토에서 분리 및 수거한다.
- 2) 생중량은 확보한 작물의 상부 무게를 저울에서 g단위로 측정한다.
- 3) 건조량은 확보한 작물의 상부 생중량 측정 후 50°C 오븐에서 2일간 건조 후 저울을 이용하여 무게를 g단위로 측정한다.

○ Chlorophyll (엽록소) 함량 측정

- 기구 및 시약

엽록소 함량 측정기(SPAD meter)

- 평가방법

1) 엽록소 함량 측정기에 작물의 잎을 넣고 엽록소 함량을 측정한다.

○ 엽장, 엽폭, 엽병 측정

- 기구 및 시약

자

- 평가방법

1) 엽장, 엽폭, 엽병의 길이/넓이를 측정한다.

□ *in vivo* 항목 평가(토양 개선)

○ pH(1:5 H₂O) 측정

- 기구 및 시약

pH meter, 50 또는 100 ml 비커, Pipet, pH 4.01, 7.00 Buffer 용액, 증류수

- 분석방법

1) 풍건토양 5 g을 50 또는 100 ml 비커에 칭량한다.

2) 비커에 증류수 25 ml를 가하고 잘 섞어준다. 이 때 유리봉이나 교반기로 저어준다.

3) 비커를 가끔씩 저어주면서 1시간 정치한다.

4) pH meter를 buffer 용액으로 적정한 뒤 전극을 넣고 60초 이내에 pH(1:5)로 기록한다.

○ 유효인산(Lancaster 법) 측정

- 기구 및 시약

ICP(또는 ICP-Mass), 추출액, No.2 여과지, 100mL 삼각플라스크, Acetic acid, Lactic acid, 증류수, NH₄F, NaOH, (NH₄)₂SO₄, pipet

- 시약제조방법

1) 추출액 : Acetic acid 400 mL과 10 M lactic acid 300 mL을 증류수 6 L에 녹이고 22.2 g의 NH₄F, 133.3 g의 (NH₄)₂SO₄, 170 g의 NaOH를 가하여 용해한 다음 실온으로 냉각되면 증류수를 가하여 20 L로 만들고 pH 4.25±0.05로 조절한다. pH를 조절하는 용액은 다음과 같이 만든다.

(1) pH 올리는 용액 : Acetic acid 40 ml와 10 M lactic acid 30 mL를 증류수 600 mL에 녹이고 2.22 g의 NH₄F, 13.33 g의 (NH₄)₂SO₄, 34 g의 NaOH를 가하여 용해한 다음 실온으로 냉각되면 증류수를 가하여 2 L로 만든다.

(2) pH 내리는 용액 : Acetic acid 40 mL와 10 M lactic acid 30 mL를 증류수 600 mL에 녹이고 2.22 g의 NH₄F, 13.33 g의 (NH₄)₂SO₄를 가하여 용해한 다음 실온으로 냉각되면 증류수를 가하여 2 L로 만든다.

- 분석방법

풍건 세트 5 g을 100 ml 삼각플라스크에 취하고 추출액 20 ml를 가하여 10분간 진탕한 후 No.2 여과지로 여과한다. 적절한 농도로 희석한 후 ICP(또는 ICP-Mass)로 분석한다.

- 계산법

기기검출 농도 (mg/L) x 20 ml / 5g x 환산계수 (2.29) x 희석배수 = P₂O₅ (mg/kg)

○ 치환성 양이온 측정

- 기구 및 시약

ICP(또는 ICP-Mass), NH₄OAc, Acetic acid, NH₄OH, 100 ml 삼각플라스크, No.2 여과지, 증류수, pipet

- 시약제조방법

1) 1M NH₄OAc(pH 7.0): 다음 3가지 중 하나를 선택하여 조제한다.

(1) 57 ml acetic acid를 증류수 800 ml에 녹이고 NH₄OH로 pH 7이 될 때까지 중화시킨 후 (약 70 ml 소요) 1 L로 희석한다.

(2) Conc.NH₄OH 1.36 L를 10 L로 희석하고 따로 1.13 L의 acetic acid를 10 L로 희석한 후 두 액을 합쳐서 20 L로 한다. 만약 pH가 7.0으로 맞지 않을 경우 1M acetic acid와 NH₄OH가 첨가된 1M CH₃COONH₄로 pH 7.0으로 조절한다.

(3) 77.08 g의 CH₃COONH₄를 물에 녹여 1 L로 만든다. 만약 pH가 7.0으로 맞지 않을 경우 1M acetic acid와 NH₄OH가 첨가된 1M CH₃COONH₄로 pH 7.0으로 조절한다.

- 분석방법

풍건토양 5 g을 100 ml 삼각플라스크에 취하고 1M NH₄OAc용액(침출액) 50 ml를 가하여 30분간 진탕 후 No.2 여과지로 여과한 다음 적절한 농도로 희석하여 ICP(또는 ICP-Mass)로 분석한다.

- 계산법

Ex. K(cmol_c/kg)

= 기기검출 농도(mg/L) x 희석배수 x 50 ml / 5 g / 39.312 / 10 x 1

Ex. Ca(cmol_c/kg)

= 기기검출 농도(mg/L) x 희석배수 / 20.04

Ex. Mg(cmol_c/kg)

= 기기검출 농도(mg/L) x 희석배수 / 12.15

□ *in vivo* 항목 평가(작물 병해충 억제)

: 병원균 및 작물에 따라 방법이 상이함

○ 고추 탄저병에 대한 고추 작물 *in vivo* 효능 평가

- 기구 및 시약

기주 식물(고추), 멸균증류수, chamber, 분무기, 2.2L 직사각형 밀폐용기, filter paper, 이미지 촬영 장비, Image J 프로그램, pipet, petri dish, spreader,

- 시약제조방법

1) 고추 탄저병 병원균은 멸균증류수를 부어 spreader로 긁어준 뒤 포자 현탁액(2×10⁵ spore/mL)을 확보한다.

2) 고추1개당 3지점에 분주하여 접종하고 밀폐용기에 멸균증류수를 넣어 상대 습도가 100%가 유지되는 chamber에서 10일간 배양 후 사진촬영 한다.

- 평가방법

1) 사진 촬영 후 이미지J 프로그램을 이용하여 실험에 사용된 앞쪽 면의 전체 면적 대비 병반 면적을 구해 효능을 평가한다.

○ 배추 균핵병에 대한 배추 작물 *in vivo* 효능 평가

- 기구 및 시약

기주 식물(배추/2엽기), 멸균증류수, 병아리콩, 원예용 상토, 모종판, chamber, 삼각플라스크, 멸균기, 펀치, 핀셋, 가위, 저울

- 시약제조방법

- 1) 배추 유묘는 원예용 상토에 파종하여 온실에서 14일간(2엽기) 육묘한다.
- 2) 배추 균핵병은 병아리콩에 접종하여 2주간 배양하여 접종원으로 준비하고, 배추 균핵병이 토양전염성 병임으로 미생물 농약을 배추 유묘를 정식할 토양에 권장량만큼 처리한다.
- 3) 미생물 농약이 처리된 토양에 배추유묘를 정식하고 배추 균핵병원균 접종원을 접종하여 토양 위로 검정색 비닐을 씌워 습도를 유지하여 7일간 배양한다.

- 평가방법

- 1) 사진 촬영 및 생중량 측정을 통해 효능을 평가한다.

○ 토마토 풋마름병에 대한 토마토 작물 *in vivo* 효능 평가

- 기구 및 시약

기주 식물(토마토), 멸균증류수, 원예용 상토, 모종판, chamber, 삼각플라스크, 원심분리기, 원심분리용 튜브, 10mM MgCl₂, OD 측정기, LB 액상배지, 가위, 자, 저울

- 시약제조방법

- 1) 토마토 유묘는 원예용 상토에 파종하여 온실에서 10일간 육묘한다.
- 2) 토마토 풋마름병은 병원균을 LB배지에 액체배양 후 원심분리하여 세포를 수거하고 10 mM MgCl₂를 이용하여 OD₆₀₀=1.8 (10⁸/ml)로 희석하여 준비한다.
- 3) 미생물 농약이 처리된 토양에 토마토 유묘를 정식하여 3일간 생육시킨 뒤 토마토 유묘를 뽑아 뿌리의 끝을 자르고 병원균 현탁액에 30분간 침지하여 다시 미생물 농약이 처리된 토양에 옮겨 심고 2주간 배양한다.

- 평가방법

- 1) 사진 촬영 및 생중량 측정을 통해 효능을 평가한다.

□ 사료첨가용 미생물 제제(미생물 사료) 효능평가(*in vitro*)

○ 내열성 평가

- 기구 및 시약

클린벤치, heat block 장비, 1.5mL micro tube, 배양기, 교반기, 알코올램프, pipet, spreader, 멸균 생리식염수(saline), 배지

- 평가방법

- 1) 미생물 배양액 1ml을 1.5mL micro tube 에 넣고 heat block 장비에서 미생물 성장 적정온도 (무처리구)와 70℃(열처리구)에서 각각 5분씩 반응하며 3반복 실험 수행한다.
- 2) 반응 후 시료 1ml을 멸균 생리식염수(saline)에 넣어 10진 희석법(serial dilution)으로 희석하고 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 등 적정량의 희석 샘플 $100\mu\text{l}$ 를 미생물 적정배지에 도말한다.
(기본배지, *Bacillus* sp. : NA / *Lactobacillus* : MRS / yeast: YGC / 광합성균: R2A)
- 3) 미생물별 적정 온도의 배양기에서 20~24시간 배양한다.
- 4) 20~300개의 단일균주(colony)가 확인되는 agar plate의 colony를 계수한다.
- 5) 총균수 계산식에 대입하여 CFU(Colony Forming Unit) 계산 및 Log값 변환 후 내열성 생존율을 계산한다.

- 계산법

- * 총균수 (CFU/mL) = colony 집락수 x 희석배수 x 10
- * 내열성 생존율 = 열 처리구 / 무처리구 *100

○ 내산성 평가

- 기구 및 시약

클린벤치, 15mL centrifuge tube, 0.05M Sodium phosphate buffer pH 7.0 및 pH 2.5, 배양기, 교반기, 알코올램프, pipet, spreader, 멸균 생리식염수(saline), 배지

- 평가방법

- 1) 미생물 배양액 1mL을 원심분리하여 상등액을 제거 후 미생물 세포(cell)를 확보하는데, 모든 실험은 3반복으로 수행한다.
- 2) 미생물 세포(cell)에 0.05M Sodium phosphate buffer pH 7.0 (무처리구)과 pH 2.5 (처리구)시약을 각각 넣고 미생물별 적정 온도의 배양기에서 2시간 반응을 수행한다.
- 3) 반응 종료 후 시료 1mL을 멸균 생리식염수(saline)에 넣어 10진 희석법(serial dilution)으로 희석하고 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 등 적정량의 희석 샘플 $100\mu\text{l}$ 를 미생물 적정배지에 도말한다.
(기본배지, *Bacillus* sp. : NA / *Lactobacillus* : MRS / yeast: YGC / 광합성균: R2A)
- 4) 미생물별 적정 온도의 배양기에서 20~24시간 배양한다.
- 4) 20~300개의 단일균주(colony)가 확인되는 agar plate의 colony를 계수한다.
- 5) 총 균수 계산식에 대입하여 CFU(Colony Forming Unit) 계산 및 Log값 변환 후 내산성 생존율을 계산한다.

- 계산법

- * 총 균수 (CFU/mL) = colony 집락 수 x 희석배수 x 10
- * 내산성 생존율 = 처리구 / 무처리구 *100

○ 내담즙성 평가

- 기구 및 시약

클린벤치, 15mL centrifuge tube, 0.3% oxgall 첨가 액상배지, 배양기, 교반기, 알코올램프, pipet, spreader, 멸균 생리식염수(saline), 배지

- 평가방법

- 1) 미생물 배양액 1mL을 원심분리하여 상등액을 제거 후 미생물 세포(cell)를 확보하는데, 모든 실험은 3반복으로 수행한다.
- 2) 미생물 세포(cell)에 미생물 적정배지(무처리구)과 0.3% oxgall 첨가 배지(처리구)를 각각 넣고 미생물 별 성장 적정 온도의 배양기에서 8시간 반응을 수행한다.
- 3) 반응 종료 후 시료 1mL을 멸균 생리식염수(saline)에 넣어 10진 희석법(serial dilution)으로 희석하고 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 등 적정량의 희석 샘플 $100\mu\text{l}$ 를 미생물 적정배지에 도말한다.
(기본배지, *Bacillus* sp. : NA / *Lactobacillus* : MRS / yeast: YGC / 광합성균: R2A)
- 4) 미생물별 적정 온도의 배양기에서 20~24시간 배양한다.
- 4) 20~300개의 단일균주(colony)가 확인되는 agar plate의 colony를 계수한다.
- 5) 총 균수 계산식에 대입하여 CFU(Colony Forming Unit) 계산 및 Log값 변환 후 내담증성 생존율을 계산한다.

- 계산법

- * 총 균수 (CFU/mL) = colony 집락 수 x 희석배수 x 10
- * 내담증성 생존율 = 처리구 / 무처리구 *100

○ 장내 정착능 평가

- 기구 및 시약

HT-29 cell(human, colorectal adenocarcinoma cell line), 클린벤치, 5% CO₂ chamber 장비, cell culture dish, DMEM, FBS, antibiotics (streptomycin/penicillin), 0.1% Triton X-100, trypsin/EDTA, 1 X PBS, 원심분리 장비, 15ml centrifuge tube, 배양기, 교반기, 알코올램프, pipet, spreader, 멸균 생리식염수(saline), 배지

- 시약제조방법

- 1) Cell line 배양 배지(Cell media)를 DMEM + 10% FBS + 1% antibiotics (streptomycin/penicillin) 로 제조 하여 준비한다.

- 평가방법

- 1) HT-29 cell line을 cell media에 계대 배양하여 2주간 5% CO₂ chamber 장비에서 37℃ 온도로 배양 및 활성화시켜 준비한다.
- 2) 장내 정착능 실험 24시간 전에 HT-29 cell에 trypsin/EDTA시약을 처리하여 cell culture dish에서 떼어낸 후 항생제가 제외된 cell media에 1×10^5 cell 기준으로 24 well culture dish에 접종하고, 5% CO₂ chamber 장비에서 37℃ 온도로 16시간 이상 배양한다.
- 3) 미생물은 배양액 10ml을 원심분리하여 상등액을 제거 후 미생물 세포(cell)를 확보한다.
- 4) 미생물 세포(cell)에 DMEM배지 7ml을 넣어 풀어주고 24 well culture dish의 HT-29 cell의 16시간~24 시간 배양 후 monolayer 형성이 확인되면 cell media를 제거 후 미생물 시료를 1ml씩 well에 접종하여 5% CO₂ chamber 장비에서 37℃ 온도로 2시간 반응시킨다.
- 5) HT-29 cell에 접종하지 않은 미생물 시료는 1ml씩 멸균 생리식염수(saline)에 넣어 10진 희석법(serial dilution)으로 희석하고 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 등 적정량의 희석 샘플 $100\mu\text{l}$ 를 미생물 적정배지에 도말한다(무처리구).
- 6) 반응 종료 후 반응시료를 제거하고 HT-29 cell에 1X PBS를 1ml 넣어 세척 및 제거를 3번 수행한다.
- 7) HT-29 cell의 well에 0.1% Triton X-100 시약 1ml씩 넣고 5% CO₂ chamber 장비에서 37℃ 온도로 5분간 반응 후, 피펫팅을 이용하여 HT-29 cell을 culture dish에서 떼어내고 시료 1ml을 멸균 생리식염수(saline)에 넣어 10진 희석법(serial dilution)으로 희석하고 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 등 적정량의 희석 샘플 $100\mu\text{l}$ 를 미생물 적정배지에 도말한다(처리구).
(기본배지, *Bacillus* sp. : NA / *Lactobacillus* : MRS / yeast: YGC / 광합성균: R2A)
- 8) 미생물별 적정 온도의 배양기에서 20~24시간 배양한다.

9) 20~300개의 단일균주(colony)가 확인되는 agar plate의 colony를 계수한다.

10) 총 균수 계산식에 대입하여 CFU(Colony Forming Unit) 계산 및 Log값 변환 후 장내 정착능 생존율을 계산한다.

- 계산법

* 총 균수 (CFU/mL) = colony 집락 수 x 희석배수 x 10

* 장내 정착능 생존율 = 처리구 / 무처리구 *100

○ 곰팡이 독소 측정

- 기구 및 시약

LC-MS/MS(UPLC-MS/MS or HPLC-MS/MS), C18 column, 호모게나이저, 진탕기, 원심분리기, 농축기, 3차 증류수, methanol, formic acid, ammonium formate, PBS buffer (pH 7.0), 면역친화성 컬럼, pipet, 저울, 표준체 (pore size 0.5um), 1ml syringe, 0.2um syringe filter, 50ml falcon tube, 25ml 둥근 플라스크, 메스실린더

- 시약제조방법

- 1) 1M ammonium formate : 6.306g의 ammonium formate를 3차 증류수 100ml에 녹여 조제한다.
- 2) Water (0.1% formic acid + 5mM ammonium formate) : 3차 증류수에 formic acid 1ml를 혼합 후 1M ammonium formate 5ml를 혼합하고 최종 부피를 1L로 하여 조제한다.
- 3) Methanol (0.1% formic acid + 5mM ammonium formate) : 메탄올에 formic acid 1ml를 혼합 후 1M ammonium formate 5ml를 혼합하고 최종 부피를 1L로 하여 조제한다.
- 4) 추출용매 (60% MeOH) : 3차 증류수에 메탄올 600ml를 혼합한 후 최종 부피를 1L하여 조제한다.
- 5) 분석용매 (50% MeOH with 0.1% formic acid) : 3차 증류수와 메탄올을 v/v = 1:1로 혼합한 후 formic acid 1ml를 주입하여 조제한다.

- 시료의조제

호모게나이저를 이용하여 시료 50g을 분쇄한 후 0.5um 표준체를 사용하여 시료를 준비한다.

- 추출방법

- 1) 시료 5g을 정밀하게 측정 후 50ml falcon tube에 넣고 추출용매를 25ml 넣어 10분간 진탕한다.
- 2) 진탕이 완료된 시료는 원심분리기 (10,000 rpm, 15min)를 이용하여 상등액을 취한다.
- 3) 상등액 5ml를 25ml 둥근 플라스크에 넣고 농축기를 이용하여 메탄올을 최대한 제거하여 준다.
- 4) 농축된 추출액에 5ml PBS를 넣고 미리 활성화시킨 면역친화성컬럼에 천천히 주입하여 준다.
- 5) 면역친화성 컬럼에 PBS를 주입하여 2~3번 세척한 후 메탄올을 이용하여 컬럼에서 곰팡이독소를 용출시킨다.
- 6) 용출된 메탄올을 농축기로 농축한 후 50% 메탄올 (0.1% formic acid) 1ml로 용해시킨 후 0.2um syringe filter로 filter 하여 분석시료로 사용한다.

- 기기분석

1) 기기조건

Instrument system	LC-MS/MS(UPLC-MS/MS or HPLC-MS/MS)	
Column	C18 column	
Flow rate (ml/min)	0.3	
Mobile phase	A (Water + 0.1% formic acid, 5mM ammonium formate)	B (MeOH + 0.1% formic acid, 5mM ammonium formate)
Time (min)	A(%)	B(%)
0.0	95	5

1.00	95	5
3.00	30	70
5.00	10	90
6.00	95	5
8.00	95	5
Capillary voltage (kV)	3.5	
Mode	ESI positive, ESI negative	
Source temperature (°C)	150	
Desolvation temperature (°C)	350	

2) 곰팡이독소 MRM(Multiple Reaction Monitoring)

분석성분 (Compound)	이온화 (Ionization)	선구이온 (Precursor ion, m/z)	생성이온 (Product ion, m/z)	충돌에너지 (Collision energy, eV)
Aflatoxin B ₁	[M+H] ⁺	313.1	241.3	40
			285.3	25
Aflatoxin B ₂	[M+H] ⁺	315.1	259.3	29
			287.3	25
Aflatoxin G ₁	[M+H] ⁺	329.1	200.3	40
			243.3	28
Aflatoxin G ₂	[M+H] ⁺	331.2	189.3	19
			245.3	28
Ochratoxin A	[M+H] ⁺	404.1	102.2	75
			239.2	25
Zearalenone	[M-H] ⁻	317.1	131.2	28
			175.3	23

- 계산식

$$\text{곰팡이독소 함량 (ng/ml)} = C \times \frac{V1}{S} \times \frac{V3}{V2} \times \frac{V5}{V4}$$

C : 검량선에서 구한 곰팡이독소의 함량(ng/mL)

S : 시료량(g)

V1: 추출용액의 부피(mL)

V2: 추출용액에서 취한 여액의 부피(mL)

V3: 최종 추출액의 부피(mL)

V4: 추출액의 주입량(mL)

V5: 건고물 용해용액의 부피(mL)

○ 유해 미생물 검출

- 기구 및 시약

클린벤치, 3M 건조필름(EC/대장균 검출배지), XLD배지, petri dish, 고압 멸균기, 배양기, 알코올램프, pipet, spreader, 멸균 생리식염수(saline)

- 시약제조방법

1) XLD배지는 110°C로 멸균하여 제조 하여 준비한다.

- 평가방법

- 1) *E. coli*(대장균) 검출은 미생물사료 제품 시료를 10배 희석 후 지시약이 포함된 3M 건조필름 (EC/대장균 검출배지)에 1mL씩 접종하고, 접종된 건조필름을 37°C 배양기에서 24시간 배양한다.
- 2) *Salmonella* 검출은 미생물사료 제품 시료를 10배 희석 후 XLD agar 배지에 100 μ l를 도말하여 37°C 배양기에서 24시간 배양한다.

- 판별방법

- 1) *E. coli*(대장균) 검출은 colony의 색깔 확인하고 파란색의 의심 colony의 경우 균수 측정 후 액체배지에 배양하여 유전자 분석을 진행한다.
- 2) *Salmonella* 검출은 XLD 배지에 진회색 colony 검출 시 액체배지에 배양하여 유전자 분석을 진행한다.

○ 동물세포 활성화

- 기구 및 시약

RAW264.7 cell(Animal, tumor in a male mouse induced with the Abelson murine leukemia virus), 클린벤치, 5% CO₂ chamber 장비, cell culture dish, DMEM, FBS, antibiotics (streptomycin/penicillin), cell culture 96 well plate, 1 X PBS, wst1, 원심분리 장비, OD값 측정 장비, 15ml centrifuge tube, 배양기, 교반기, 알코올램프, pipet, spreader

- 시약제조방법

- 1) Cell 배양 배지(Cell media)를 DMEM + 10% FBS + 1% antibiotics (streptomycin/penicillin) 로 제조 하여 준비한다.

- 평가방법

- 1) RAW264.7 cell을 cell media에 계대 배양하여 2주간 5% CO₂ chamber 장비에서 37°C 온도로 배양 및 활성화시켜 준비한다.
- 2) 미생물 세포(cell) 접종 24시간 전에 RAW264.7 cell에 spreader를 이용하여 cell culture dish에서 떼어낸 후 cell media에 5 x 10⁵ cell 기준으로 96 Well plate에 접종하고, 5% CO₂ chamber 장비에서 37°C 온도로 16시간 이상 배양한다.
- 3) 미생물은 배양액 1ml를 원심분리하여 상등액을 제거 후 미생물 세포(cell)를 확보한다.
- 4) 96 well culture dish의 RAW264.7 cell의 16시간~24시간 배양 후 monolayer 형성이 확인되면 cell media를 제거 후 RAW264.7 cell에 cell media(DMEM + 10 % FBS) 100ul씩 분주하고 미생물 시료를 10ul씩 접종하여 5% CO₂ chamber 장비에서 37°C 온도로 24시간 반응시킨다.6) 반응 종료 후 RAW264.7 cell에 1 X PBS를 150ul 넣어 세척 및 제거를 수행한다.
- 7) Cell media(DMEM + 10 % FBS) 10 : wst1 1 비율로 시약을 제조하여 RAW264.7 cell의 well에 100ul씩 넣고 5% CO₂ chamber 장비에서 37°C 온도로 3시간 배양한다.
- 8) 배양된 96well plate를 450nm파장으로 OD값을 측정하여 결과를 도출한다.

- 계산법

$$* \text{세포활성도} = \text{처리구} / \text{무처리구} * 100$$

○ 축산병원균에 대한 항균활성 평가

- 기구 및 시약

클린벤치, 배양기, 교반기, 알코올램프, spreader, pipet, paper disc, 핀셋

- 평가방법

- 1) 미생물 사료 제품 중 액상 제품은 원액을 사용하며 분말 제품의 경우 시료 3g을 취하여 미생물

생장 적정배지 27mL에 넣고 희석 및 혼합 후 30분간 배양기에서 배양을 수행한다.

- 2) 미생물 배양액을 원심분리기를 이용하여 10,000 rpm, 10 min 동안 원심분리 후 상등액을 취한다.
- 3) NCCP로부터 분양받은 대표적인 축산병원균을 적정배지(LB, SD, BHI)에 100 μ l씩 도말한다($1\sim 2 \times 10^8$ CFU/mL).
- 4) 병원균이 도말된 배지 위에 멸균된 paper disc를 핀셋으로 치상하고 준비된 제품 시료를 20 μ L 떨어뜨려 흡수시킨다.
- 5) 축산병원균의 적정온도(30 $^{\circ}$ C~37 $^{\circ}$ C) 배양기에서 1일간 배양한다.

- 판별방법

- 1) 미생물 사료 제품 시료를 접종한 paper disc 주위로 clear zone의 유무를 확인하고 지름 측정을 통한 병원균 저해능력치를 확인한다.

□ 사료첨가용 미생물 제제(미생물 사료) 효능평가(*in vitro* 및 *in vitro*)

○ 육계 생산성 조사

- 육계 품종

미생물 사료첨가제의 효능평가를 위해 육용계 Ross 308 1일령 혹은 육용계 Arbor Acres 1일령으로 사육실험

- 사료

- 1) 기초사료는 한국가금사양표준 (2017)의 영양소 요구량에 맞게 옥수수과 대두박을 위주로 배합하여 전기와 후기 사료로 제조하여 사용
- 2) 전기 및 후기사료는 각각 가루사료 형태를 expanding한 후, 크럼블 및 펠렛 형태로 가공한 시판사료를 이용. 미생물 사료첨가제를 기초사료에 각각 권장량으로 첨가하여 4~5주 진행

- 사료첨가제

사료첨가제 샘플을 사료에 0.1~0.5% 첨가하고 골고루 혼합하여 서늘한 곳에 보관하여 사용

- 계사 환경

- 1) 계사 내부 온도는 실험 첫 주에 평균 33℃를 유지하고, 이후 1주일마다 2도씩 온도를 낮추어 종료 시까지 26℃로 유지
- 2) 사료와 물은 자유롭게 섭취케 하며 24시간 동안 점등

- 육계의 생산성이 미치는 급여효과 측정

- 1) 체중 (BW)을 측정하기 위해 반복 내에 있는 개체들을 한 번에 무게를 측정한 후 마리 수로 나누어 평균 체중을 산출
- 2) 사료섭취량 (FI)은 매주 급여한 무게에서 잔량 사료의 무게를 빼서 산출
- 3) 증체량 (BWG)은 매주 측정한 체중의 차이 값을 산출하여 나타내고, 이를 날짜로 나누어 일당 증체량 (ADG)으로 표시
- 4) 사료요구율 (FCR)은 사료섭취량을 일당증체량으로 나누어 산출

○ 도계 후 부위별 육량 비교

- 기구 및 시약

- 1) 저울

- 분석방법

- 1) 도계된 개체들로부터 면역 장기 (간, 비장, F낭), 계육 (가슴육, 다리육)의 샘플 채취
- 2) 해당 샘플들은 도계 직후 4℃에 보관
- 3) 내장, 면역 장기 및 계육의 상대적 중량은 처리구별 선별한 육계의 체중과 채취한 샘플의 무게를 측정하여 생체중 100 g당 무게를 비율로 나타냄

○ 육질 평가 분석

- 기구 및 시약

pH meter, water bath, 색도계

- 분석방법

- 1) 계육의 pH는 가슴육의 1 cm 깊이에 pH meter를 넣었을 때, 나타난 수치로 산출하며 각 샘플 당 3회 측정
- 2) 가열감량 (Cooking loss)은 시료를 원형의 일정한 모양 (가슴육 25g)으로 정형한 후, polyethylene bag에 넣어 75℃ water bath에서 30분간 가열 후, 상온에서 10분간 방냉시켜 가열 전후의 무게 차이를 비교하여 감량된 양을 산출

- * $\text{Cooking loss(\%)} = \frac{\text{Sample weight before cooking} - \text{Sample weight after cooking}}{\text{Sample weight before cooking}} \times 100$
- 3) 육색은 가슴육 시료의 표면을 색도계를 사용하여 명도 (lightness)를 나타내는 L*값, 적색도 (redness)를 나타내는 a*값 및 황색도 (yellowness)를 나타내는 b*값을 측정. 이때의 표준색은 L*값이 97.69, a*값이 -0.43, b*값이 +1.98인 calibration plate를 사용

○ 소화장관의 길이 비교

- 기구 및 시약

- 1) 권척(tape measure)

- 분석방법

미생물제제의 사료 내 첨가에 따른 소장과 맹장의 길이를 측정. 소장은 십이지장, 공장 및 회장의 3부위로 나누어 측정하며, 결과는 총 길이 (cm), 생체중 100 g당 길이 (cm)로 나타냄

○ 장내 미생물균총 조성 및 우점종 균주 동정

- 기구 및 시약

MRS, NA, MacConkey, SS (Salmonella 및 Shigella 배지, 예 Difco, USA), PBS (Phosphate buffered solution), BD GasPak EZ (예, Becton Dickinson and Co., MD 21152, USA)

- 분석방법

- 1) 회장 및 맹장 내 생균수 검사는 MRS, NA, MacConkey, SS (Salmonella shigella) 평판배지로 표준 한천배양법을 사용하여 측정. 각 장관의 내용물 1g을 pH 7.2의 PBS (Phosphate buffered solution) 9 ml에 넣은 후 균질화 과정을 거쳐 1차 희석 후 순차적으로 희석 (희석 비율은 1:9). 그 후 각각의 배지에 10 μ l을 배지에 dropping하거나 100 μ l을 spreading함. SS, NA, MacConkey 배지는 37 $^{\circ}$ C 인큐베이터에서 24시간 동안 호기상태로 배양. MRS 배지는 호기상태 혹은 GasPak에서 37 $^{\circ}$ C에서 48시간 동안 혐기배양. Colony 수를 측정하여 CFU/g을 계산 후 log₁₀ 값으로 환산. 모든 실험은 3반복으로 진행
- 2) 맹장 등 장내 우점 균주의 동정을 위하여 각 평판배지에서 우점종 미생물을 선별하였으며 16S rRNA에 대하여 785F (forward primer: 5'- GGATTAGATACCCCTGGTA-3') 및 907R (3'-CCGTCAATTCMITTRAGTTT-5')을 이용하여 염기서열을 밝힘. NCBI의 BLAST를 이용하여 Gene bank에서 유전자의 유사성을 분석하여 동정함

○ 소화장관의 용모 및 음와 형태학적 지표 비교

- 기구 및 시약

전자 현미경 (예, BX43, Olympus, Tokyo, Japan), eXcope X3 software (예, DIXI Science, Daedeok-gu, Daejeon, Republic of Korea)

- 분석방법

- 1) 반복 당 선택된 두 마리의 개체 중, 한 마리에서 적출한 소장 구획 중 공장, 회장으로 구분하여 실시. 공장과 회장의 각각 가운데 약 5cm 정도를 절단한 후 pH 7.2의 PBS (Phosphate buffered solution)을 이용하여 장내 내용물을 제거함
- 2) 1% formalin, 5% formalin, 10% formalin 용액 순으로 침지하여 Falcon tube에 담아 icebox 에 보관하여 실험실로 이동 후 상온에 보관. 이를 paraffin film으로 처리함
- ① 적출한 장기를 중성 완충 포르말린에 고정
- ② 고정이 완료된 장기를 조직표본 제작에 적합한 크기의 형태 약 2~3 mm의 두께로 삭정을 실시
- ③ 조직표본 제작에 적합하게 삭정을 실시한 검체는 개체번호가 작성된 카세트에 넣어 13시간 조직처리 (STP120 Spin tissue Processor, Myr)를 실시
- ④ 박절기 (Finesse ME Microtome, Thermo Shandon)를 이용하여 약 3~4 μ m 두께로 박절하여 발생된 절편 (Section)을 슬라이드에 부착하여 건조 후 탈 파라핀, 함수과정을 거쳐 증류수로

세척

⑤ Hematoxylin & Eosin 염색을 실시

3) 용모의 Villi의 높이 (VH)와 crypt의 깊이 (CD)를 관찰하기 위해 전자 현미경과 분석 eXcope X3 software를 사용하여, 5곳의 부분에서 길이를 측정하고 평균을 데이터로서 사용함

○ 혈액분석

- 기구 및 시약

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 처리된 채혈관

- 분석방법

- 1) 현장에서 펜당 2 마리 도계된 개체에서 심장에서 채혈하여 얻은 약 8 ml의 혈액을 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 처리된 채혈관에 넣어 icebox에 보관하여 실험실로 이동
- 2) 원심분리하기 전의 전혈은 혈액분석 센터에 위탁하거나 혹은 Kit를 사용하여 red blood cell (RBC), white blood cell (WBC), hemoglobin, hematocrit (HCT), mean cell volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), platelet (PLT)를 정량 분석함

○ 혈청 내 생화학 지표 분석

- 기구 및 시약

일반형 진공채혈관, 원심분리기, 전자동 건식생화학분석기 (예, CHEM 7000i, Japan)

- 분석방법

- 1) 심장 채혈을 통해 개체 당 약 10 ml의 혈액을 채혈
- 2) 채혈한 혈액을 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 처리된 채혈관에 주입하여 4°C에 원심분리기를 이용하여 1,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리
- 3) 분리된 혈청을 전자동 건식생화학분석기를 이용하여 Gamma glutamyl transpeptidase (GGT), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), glucose, blood urea nitrogen (BUN), creatine, triglyceride (TG), total protein (TP), albumin, uric acid, total cholesterol (TCHO)를 분석

○ 깔짚 내 악취 원인물질 농도 측정

- 기구 및 시약

검지관 (예, Gastec detector tube, Japan), 휴대용 악취 측정기 (예, SKY2000-M4, Locus Airtech, Korea) 혹은 검지펌프(예, 기체채취기, Gastec GV-100S, Japan), 버니어 캘리퍼스

- 분석방법

- 1) 악취물질을 평가하기 위하여 국립환경과학원에서 고시한 악취공정시험법 (2014)에 따라 실험을 수행. 악취물질의 포집을 위하여 농도 평형을 실시
- 2) 100 g의 깔짚 샘플에 2.5 L/min의 유속으로 질소 (N₂)가스를 15분간 주입한 후, TEDLAR 백에 가스를 포집. 암모니아 (NH₃), 황화수소 (SO₂), 이산화황 (H₂S)을 검지관과 휴대용 악취 측정기를 사용하여 측정
- 3) 각 가스의 농도를 정확하게 평가하기 위하여 버니어 캘리퍼스를 이용하여 눈금을 측정하고 이를 보정함

○ 통계분석

- 분석법

Statistical Analysis System 9.4 (SAS, Institute, 2011)의 PROC MIXED Model

- 분석방법

- 1) Statistical Analysis System 9.4 (SAS, Institute, 2011)의 PROC MIXED Model을 이용하여 분석하였으며, 완전무작위배치 (Complementary randomized design) 실험법을 이용하여 실험을 설계
- 2) 생산성 조사항목과 깔짚의 악취 원인물질 농도 분석에 대해서는 각 반복을 실험단위로 설정하였으며, 이외 조사항목에서는 선택된 각 개체를 실험단위로 설정하였음. 일원분산분석 (ANOVA)을 통해 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 결정했으며 처리구 간 다중 사후검정은 Tukey's test를 이용하여 비교함
- 3) 데이터의 변이는 standard error of mean (SEM)으로 표시

양돈

○ 육성 비육돈 생산성 조사

- 돼지 품종

3원교잡돈 [(Landrace × Yorkshire) × Duroc]

- 측정 방법

- 1) 체중이 비슷하게 3원교잡돈을 처리구 반복별로 배치한다.
- 2) 온도는 18~20℃, 습도는 60%, 조도는 100Lux, 점등시간은 18시간으로 한다.
- 3) 사료와 물은 자유롭게 섭취케 한다.
- 4) 사료섭취량은 사료급여량에서 잔량을 제하여 계산하고, 사료효율은 증체량을 사료섭취량으로 나누어 산출한다.

○ 혈구 분석

- 기구 및 시약

주사기 (5mL), EDTA vacutainer tube, 혈구분석기

- 분석방법

- 1) 5mL 주사기를 이용하여 돼지 경정맥에서 혈액을 3mL 이상 EDTA vacutainer tube에 채취한다.
- 2) 혈구자동분석기로 WBCs (segment, lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil), RBCs (Hb, Hct) 농도를 측정한다.

○ 사이토카인 분석

- 기구 및 시약

ELISA, 사이토카인 (IL-1 β , IL-6, TNF- α) 키트, 마이크로플레이트 판독기

- 분석방법

- 1) 혈액샘플을 한 웰에 시료 1개당 100 μ l를 넣고 실온에서 2시간 배양한다.
- 2) 1 x Assay wash buffer 200 μ l를 추가하여 플레이트를 세척한다.
- 3) 각 웰에 희석된 비오틴 표지 항체 (biotin-labeled antibody) 혼합물 100 μ l를 넣고 실온에서 1시간 동안 배양한 후 3번과 같이 세척을 반복한다.
- 4) 희석된 streptavidin-HRP 100 μ l를 각각의 웰에 넣고 실온에서 45분간 배양한 후 3번과 같이 세척을 반복한다.
- 5) 각 웰에 100 μ l의 기질을 넣고 최소 30~40분간 배양한다.
- 6) 각 웰에 Stop 용액 50 μ l를 추가한다.
- 7) 플레이트 판독: 30분 이내에 450nm의 마이크로플레이트 판독기 (microplate reader)로 각 웰의 광학 밀도 (OD) 값을 읽는다.

○ 부속도 측정

- 기구 및 시약

Solvita kit

- 분석방법

- 1) 신선한 토분을 항문 마시지법으로 채취한다.
- 2) 상온에서 4시간 동안 발효시킨 후 수분함량을 확인한다.
- 3) 시료 100g 플라스틱 용기에 넣고, NH₃ 및 CO₂ 패들을 용기 내 시료 안에 꽂아 넣는다.
- 4) 뚜껑을 완전히 닫고, 4시간 동안 상온 (20-25℃)에 방치한 후, 결과 값은 컬러차트를 이용하여 확인하거나 DCR에 삽입하여 결과 값을 읽는다.

- 부속도 판정

1~8까지의 숫자가 수치로 표시되는 부속도 측정 값

1~3 : 부속이 거의 진행되지 않은 상태(이산화탄소/암모니아가 계속 발생하는 상태)

4~6 : 부속이 진행 중이지만 여전히 이산화탄소/암모니아가 발생하는 상태.

7~8 : 부속이 거의 완료되었거나 완료된 상태

○ 분내 악취물질

- 기구 및 시약

플라스틱 용기 (2,600mL), 복합가스 측정기

- 분석방법

- 1) 신선한 토분을 항문 마시지법으로 채취한다.
- 2) 교반 후 300g을 취하여 2,600mL의 밀봉된 플라스틱 용기에 넣고, 1주일간 상온에서 발효시킨다.
- 3) NH₃, H₂S, Methyl mercaptan, Acetic acid 및 CO₂ 가스 농도를 복합가스 측정기를 사용하여 측정한다

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

- 특허 출원 2건
- 특허 등록 2건
- 기술이전 2건
- SCIE 논문 게재 5건
- 논문 평균 IF 2.526
- 국내 학술대회 발표 6건
- 고용창출 10명
- 전문인력 양성 1명

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Complete genome sequence of <i>Bacillus coagulans</i> CACC 834 isolated from canine	JAST	김정애	63	대한민국	한국축산학회지	SCIE	2021.11.30	2672-0191	100%
2	<i>Bacillus velezensis</i> TSA32-1 as a Promising Agent for Biocontrol	Journal of Fungi	김정애	8	스위스	MDPI	SCIE	2022.10.08	2309-608X	100%
3	Complete genome sequence of functional probiotic candidate <i>Lactobacillus amylovorus</i> CACC736	JAST	박소연	-	대한민국	한국축산학회지	SCIE	2022.10.13	2672-0191	100%
4	Comparative study between high versus low dose zinc oxide in the diet with or without probiotic supplementation on weaning pigs' growth performance, nutrient utilization, fecal microbes, noxious gas discharges, and fecal score	Canadian journal of science	Sarhani Biswas	00	캐나다	Canadian Science Publishing	SCIE	2022.11.18	0008-3984	100%
5	A preliminary evaluation on mixed probiotics as an antimicrobial spraying agent in growing pig barn	JAST	S. Suresh Kumar	64	대한민국	한국축산학회지	SCIE	2022.11.30	2672-0191	100%

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2021한국토양비료학회	송정섭	2021.11.18~19	부산	대한민국
2	2021 한국가금학회 정기총회 및 학술발표회	문승규	2021.11.18	대전	대한민국
3	2021년(사)한국축산학회 정기총회 및 심포지엄	김양선	2021.11.11	여수	대한민국
4	The 19th AAAP Animal Science Congress	S Vetriselvi	2022.08.23	제주도	대한민국
5	The 19th AAAP Animal Science Congress	CB Lim	2022.08.23	제주도	대한민국
6	The 19th AAAP Animal Science Congress	박미리엄	2022.08.23	제주도	대한민국

기술 요약 정보

- 해당사항없음

보고서 원문

- 해당사항없음

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

- 해당사항없음

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	신균주 락토바실러스 람노서스 CACC612 및 이를 유효성분으로 함유하는 반려동물용 사료 조성물	대한민국	(재)농축산 용미생물 산업육성 지원센터	2021.07 .28	10-2021- 0099277	-	(재)농축 산용미생 물산업육 성지원센 터	2022.09. 08	10-2443 495	100 %	기술이전
2	신균주 비피도박테리움 애니멀리스 CACC789 및 이를 유효성분으로 함유하는 반려동물용 사료 조성물	대한민국	(재)농축산 용미생물 산업육성 지원센터	2021.07 .28	10-2021- 0099278	-	(재)농축 산용미생 물산업육 성지원센 터	2022.09. 08	10-2443 494	100 %	기술이전

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
1				√						
2				√						

저작권(소프트웨어, 서적 등)

- 해당사항없음

신기술 지정

- 해당사항없음

기술 및 제품 인증

- 해당사항없음

표준화

- 해당사항없음

[경제적 성과]

시제품 제작

- 해당사항없음

기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	통상실시권	신균주 락토바실러스 람노서스 CACC612 및 이를 유효성분으로 함유하는 반려동물용	우진비앤지(주)	2021.08.19	10,000,000원	

		사료 조성물				
2	통상실시권	신균주 비피도박테리움 애니멀리스 CACC789 및 이를 유효성분으로 함유하는 반려동물용 사료 조성물	우진비앤지(주)	2021.08.19	10,000,000원	

사업화 투자실적

- 해당사항없음

사업화 현황

- 해당사항없음

매출 실적(누적)

- 해당사항없음

사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

- 해당사항없음

고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2021년	2022년	
1	유용농생명자원산업 화기술개발사업 '농 축산용 미생물제품 성능 조사 표준 모델 개발' 참여연구원	(재)농축산용미생물 산업육성지원센터	1	9	10
합계			1	9	10

고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	22
		생산인력	
	개발 후	연구인력	20
		생산인력	

* 기관간접고용 및 퇴사자 발생으로 인한 인원수 차이 발생

비용 절감(누적)

- 해당사항없음

경제적 파급 효과

- 해당사항없음

산업 지원(기술지도)

- 해당사항없음

기술 무역

- 해당사항없음

[사회적 성과]

법령 반영

- 해당사항없음

정책활용 내용

- 해당사항없음

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

- 해당사항없음

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	정해인	2021	1					0	0				

산업 기술 인력 양성

- 해당사항없음

다른 국가연구개발사업에의 활용

- 해당사항없음

국제화 협력성과

- 해당사항없음

홍보 실적

- 해당사항없음

포상 및 수상 실적

- 해당사항없음

[인프라 성과]

연구시설·장비

- 해당사항없음

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

- 특허 출원 2건
- 특허 등록 2건
- 기술이전 2건
- 전문인력 양성 1명

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 유통 미생물제제 현황 조사 및 확보 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미생물 비료 등록업체 133개, 제품 209개 조사 ○ 미생물 농약 등록업체 8개, 제품 18개 조사 ○ 작물보호제 등록업체 37개, 제품 71개 조사 ○ 사료첨가용 미생물제제 등록업체 174개, 제품 421개 조사 	100
<ul style="list-style-type: none"> ○ 미생물제제 효능평가 및 우수제품 선정 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미생물 비료, 미생물 농약, 미생물 사료의 <i>in vitro</i> 효능 평가 항목 설정 및 구축 ○ 유통 중인 미생물제제 효능 평가 및 작물/가축 실험 후보군 선정 	100
<ul style="list-style-type: none"> ○ 작물의 생육 촉진 효능 검증 모델 개발 ○ 작물 생육 촉진 효능/ 병해충 억제 효과 (<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>) 검증 (고추, 배추, 토마토) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미생물 비료 20개 제품의 품질 평가 및 효능 평가 항목 (<i>in vitro</i>) 설정/구축 ○ 미생물 비료 11개 제품의 선정된 대상작물 (고추, 배추, 토마토)의 <i>in vivo</i> 효능 평가 ○ 미생물 농약 10개 제품의 품질 평가 및 효능 평가 항목 (<i>in vitro</i>) 설정/구축 ○ 미생물 농약 10개 제품의 선정된 대상작물 (고추, 배추, 토마토)의 <i>in vivo</i> 효능 평가 	100
<ul style="list-style-type: none"> ○ 축산용 미생물제제 성능 평가 모델 개발 ○ 미생물제제 효능평가(<i>in vitro</i>) ○ 양돈, 양계 사양실험(<i>in vivo</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미생물 사료 30개 제품의 품질 평가 및 효능평가 항목 (<i>in vitro</i>) 설정/구축 ○ 양돈용 미생물 사료 5개 제품(조건)에 대한 3원 교잡 이유 자돈 및 육성돈 사양 평가 (<i>in vivo</i>) ○ 양계용 미생물 사료 15개 제품(조건)에 대한 사양 평가 (<i>in vivo</i>) 	100
<ul style="list-style-type: none"> ○ 농축산용 미생물 제품 성능 평가 (우점균, 생균수 측정, 독성, 중금속 평가 등) 모델 확보 40제품 ○ 매뉴얼 제작 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 농축산용 미생물 제품 성능 평가(우점균, 생균수 측정, 독성, 중금속 평가 등) 모델 확보 60개 제품 ○ 기준안 제시 및 매뉴얼 제작 	100

4. 목표 미달 시 원인분석- 해당사항 없음

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 본 연구를 통해 국내 외 유통 미생물제제 현황을 조사하여 농축산용 미생물제제 등록업체 352개, 미생물제품 719개에 대한 정보를 확보함으로써 현 시점의 전반적인 미생물제제에 대한 현황을 파악 하였음.
- 미생물 비료 20개 제품, 미생물 농약 10개 제품, 미생물 사료 30개 제품을 선정하여 품질 평가 및 효능 평가 (*in vitro*, *in vivo*)를 수행함으로써 다양한 작물과 축종에 대한 평가가 어려운 농축산용 미생물제제에 대한 평가기준(안)을 제시함으로써 미생물제제의 품질 향상과 효과 검증에 대한 필요성을 강조함.
- 제시된 미생물 제제에 대한 평가 기준 지표를 통해 품질 평가 및 효능 평가 (*in vitro*, *in vivo*)의 복합적인 평가가 수행 된 미생물제제는 미생물제제 시장의 품질 및 효과에 대한 신뢰도를 회복시키며 친환경 미생물 소재 산업의 글로벌 경쟁력 확보 및 생물자원 기반기술 향상을 도모 할 수 있음.
- 친환경 농산물의 수요 증가에 따라 미생물제제가 친환경 농산물 시장에 정착되면 안전한 먹거리 및 환경 제공을 통한 국민의 삶의 질 향상으로 건강하고 바른 먹거리를 공급하는 사회적 기여도를 기대할 수 있음.

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 본 연구를 통한 성능 기반의 미생물 제품 유통 및 보급에 활용
- 본 연구는 ‘미생물 제품의 평가기준 마련을 위한 성능 조사 표준모델 개발’을 목표로 수행되었으므로 사업화(매출액, 기술료)항목 관련 없음

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
	3) 분석결과보고서(축산 미생물제제 활용 및 인지도 조사)

[뒷면지]

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명자원산업화기술개발사업 농축산용 미생물제품 성능 조사 표준 모델 개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 유용농생명자원산업화기술개발사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호			
사업구분	유용농생명자원산업화 기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	유용농생명자원산업화 기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	농축산용 미생물제품 성능 조사 표준 모델 개발			과제유형	(기초,응용,개발)
연구개발기관	(재)농축산용미생물산업육성지원센터			연구책임자	김양선
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	9개월	225,000	-	225,000
	2차년도	12개월	300,000	-	300,000
	계	21개월	525,000	-	525,000
참여기업	-				
상대국	-	상대국연구개발기관	-		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2023.02.02

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(재)농축산용미생물산업육성지원센터	팀장	김 양 선

4. 평가자(연구책임자) 확인 : 김 양 선

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확 약	
-----	--

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수

유통되고 있는 작물용 미생물제제 30개 제품 및 사료용 미생물제제 30개 제품에 대하여 품질 평가 및 효능 평가(*in vitro*, *in vivo*)를 수행하고 작물용과 사료용 미생물 제품 각각의 기능평가와 표준 모델 제시를 수행함으로써 농축산용 미생물제제에 대한 포괄적인 성능 및 품질 평가를 위한 기준(안)을 제시하고자 하였음. 또한 본 과제 수행에 대한 특성 및 연구 역량을 보유한 각 연구기관별의 탁월한 구성과 유기적인 연구를 통해 실험 수행, 분석, 매뉴얼작성, 기준(안) 제시 등의 우수한 결과를 확보함

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수

농축산용 미생물제제 시장의 품질 및 기능에 대한 신뢰도 회복 및 미생물제제의 안정성/안전성/기능성 확보를 통한 농축산용 미생물산업의 활성화를 기대할 수 있음

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수

농축산용 미생물제제의 품질 및 효능평가(*in vitro*, *in vivo*)를 통한 미생물제제 평가 기준(안) 제시를 통해 미생물제제의 안정성과 안전성 뿐 아니라, 농축산물의 효과개선을 확보할 수 있음. 이러한 미생물제제가 현장 적용되어 탈 탄소정책과 부합하는 친환경 농산물 시장 활성화에 기여할 수 있으며, 미생물제제 시장의 신뢰도 회복뿐만 아니라 건강하고 바른 먹거리를 공급하는 사회적 기여도를 기대할 수 있음

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수

1년 9개월이라는 짧은 연구 수행기간에도 불구하고 농축산용 미생물제제 60건에 대한 품질 평가 및 효능 평가(*in vitro*) 및 고추, 배추, 토마토 작물을 대상으로 생육 촉진 및 병해 억제용 효능 평가 (*in vivo*), 양돈/양계 사양실험 (*in vivo*)의 다량의 연구 수행결과는 각 연구개발 기관들의 우수한 성실도로 이루어짐. 또한 양돈의 현장실증을 통한 데이터 확보는 당초 계획서상에 계획되지 않았으나 연구팀의 성실성과 우수한 책임감으로 수행 되었고 의미있는 결과를 도출함

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수

1년 9개월의 연구 수행기간 동안 특허 출원 2건, 특허 등록 2건, 기술이전 2건, SCIE 논문 5편, 학술발표 6건의 매우 우수한 연구 개발 실적을 확보하였음

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체 평가
국내 외 유통 미생물제제 현황 조사 및 확보	5	100	<ul style="list-style-type: none"> • 국내 외 유통 미생물제제 현황 조사를 통한 미생물 비료 등록업체 133개, 제품 209개 조사 • 미생물 농약 등록업체 8개, 제품 18개 조사 • 작물보호제 등록업체 37개, 제품 71개 조사 • 사료첨가용 미생물제제 등록업체 174개, 제품 421개 조사 및 확보함
미생물제제 효능평가 및 우수제품 선정	5	100	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물 비료 20개 제품, 미생물 농약 10개 제품 • 미생물 사료 30개 제품에 대한 품질 평가 효능평가 수행함
작물용 생육 촉진 효능 검증 모델 개발	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 선정된 미생물 비료 11개 제품에 대해 대상작물 고추, 배추, 토마토에 적용한 <i>in vivo</i> 효능 평가 및 모델 개발 수행함
작물 병해충 억제 효과 검증 모델 개발	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 고추, 배추, 토마토 대상 병원균에 대한 항균능을 평가하고 효능평가 항목을 설정 및 구축함
양돈용 미생물제제 성능 평가 모델 개발	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 160두의 이유자돈에 미생물 사료 2종에 대한 평가 및 200두의 육성돈에 미생물 사료 3종에 대한 사양 평가 수행함 • 양돈의 경우 현장실증 평가를 통한 실험 수행 및 데이터 확보함
양계용 미생물제제 성능 평가 모델 개발	20	100	<ul style="list-style-type: none"> • 540수의 육용계에 미생물 사료 5종에 대한 평가 및 900수의 육용계에 대한 미생물 사료 10종에 대한 사양 평가 수행함
기준(안) 제시 및 매뉴얼 제작	10	100	<ul style="list-style-type: none"> • 미생물 비료/ 미생물 농약/ 미생물 사료의 평가 기준(안) 제시 및 매뉴얼 작성
합계	100점	100	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 본 연구는 친환경 농산물 수요가 확대됨에 따라 농축산용 미생물제제에 대한 관심과 시장이 급성장하고 있어 현재 유통되고 있는 농축산용 미생물제제의 성능 및 품질 평가 기준치 마련이 필요함으로 이를 구축하고자 하였음. 연구 수행을 통해 국내 외 유통 미생물제제 현황을 조사하여 농축산용 미생물제제 등록업체 374개, 미생물제품 719개에 대한 정보를 확보하였고, 미생물 비료 20개 제품, 미생물 농약 10개 제품, 미생물 사료 30개 제품을 선정하여 품질 평가 및 효능 평가 (*in vitro*, *in vivo*)를 수행하였음. 작물용 생육 촉진 효능 검증 모델 개발 3건, 작물 병해충 억제 효과 검증 모델 개발 2건을 비롯하여 양돈용 미생물제제 성능 평가 모델 1건, 양계용 미생물제제 성능평가 모델 1건을 평가방법으로 제시하였고 각 평가에 대한 평가 지표 등을 구축하였음.

- 결론적으로, 농축산용 미생물제제에 대한 평가 방법 및 지표는 품질 평가와 효능 평가 (*in vitro*, *in vivo*)가 필요하며 특히 *in vivo* 효능평가 시 적용 대상 작물(축종)의 종류와 용도에 따른 평가가 이루어져야함을 확인하였음.

-이러한 농축산용 미생물제제의 평가 기준(안) 구축하고자하는 기획과 구성은 미생물제제의 안정성/안전성/기능성을 확보하는 우수 미생물제제 인증의 기초결과가될 것이며 미생물제제 시장의 활성화를 도모하는 이 시점에서 중요한 연구임.

-작물의 범위와 축산물에 대한 적용 기간을 확대하여 연구가 더 수행되어야 할 것으로 판단됨

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

농축산용 미생물제제에 대한 품질평가 및 효능 평가(*in vitro*, *in vivo*)를 통한 평가 모델 기준(안) 제시는 농업과 축산분야에서 광범위하고 다양한 작물과 축종에 대한 연구임으로 표준적 평가 방법과 항목을 단적으로 정의 할 수는 없으나, 대표적인 대상 작물(축종)을 통한 연구결과를 수행하기 위해 노력하였으며, 특히 양돈의 *in vivo* 효능 평가 등은 짧은 기간과 제한된 환경의 약점을 보완하고 현장에 적용한 현장실증을 통하여 미생물제제의 효과 및 평가 모델 제시 연구에 최선을 다함.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

농축산용 미생물제제의 신뢰도 제고와 활성화를 위해 본 연구결과로서 제시된 품질 평가 및 효능 평가방법을 활용하여 우수제품 선정 및 안정적인 제품 보급을 이루고자 하며, 이를 위하여 농업과 축산분야의 다양한 작물 및 축종에 대한 평가가 요구됨.

IV. 보안성 검토

○ 보안성 필요치 않음

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

: 해당 사항 없음

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

: 해당 사항 없음

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	유용농생명자원산업화기술개발사업	
연구과제명	농축산용 미생물제품 성능 조사 표준 모델 개발			
주관연구개발기관	(재)농축산용미생물산업육성지원센터	주관연구책임자	김 양 선	
연구개발비 (단위 : 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	525,000	-	-	525,000
연구개발기간	2021.04.01.~2022.12.31. (1년 9개월)			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input checked="" type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 국내 외 유통 미생물제제 현황 조사 및 확보	국내 외 유통 미생물제제 현황 조사를 통한 미생물 비료 등록업체 133개, 제품 209개 조사/ 미생물 농약 등록업체 8개, 제품 18개 조사/ 작물보호제 등록업체 37개, 제품 71개 조사/ 사료첨가용 미생물제제 등록업체 174개, 제품 421개 조사 및 확보
② 작물용 미생물제제 효능 및 품질 평가	미생물 비료 20개 제품/ 미생물 농약 10개 제품에 대한 품질 평가 및 효능 평가(<i>in vitro</i> , <i>in vivo</i>) 완료
③ 축산용 미생물 제제 효능 및 품질 평가	미생물 사료 30개 제품에 대한 품질 평가 및 효능 평가(<i>in vitro</i> , <i>in vivo</i>) 완료. 양돈과 양계 사양실험 완료 및 양돈 현장 실증 완료
④ 농축산용 미생물 제품 성능 평가 모델 확보 및 매뉴얼 제작	미생물제제별 성능평가 기준(안) 제시 및 매뉴얼 제작 완료

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용예외)
	특허출원	특허등록	품종등록	S M A R T	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출		투자유치	논문 SCI	비SCI			논문평균 I F	학술 발표	
단위	건	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건	
가중치										50				50					
최종 목표										2		2		2	3				

당해 년도	목표									1					2		2	3						
	실적									9					4		2.6 01	3						
달성률 (%)										900					200		130	100						

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	작물용 미생물제제 성능 평가 모델 확보
②	축산용 미생물제제 성능 평가 모델 확보

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장으로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		v						v	v	
②의 기술		v						v	v	

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	작물용 미생물제제의 품질 평가 및 효능 평가의 지표 확립, 복합적인 평가(안)을 통한 우수 제품 선정
②의 기술	축산용 미생물제제 품질 평가 및 효능 평가의 지표 확립, 복합적인 평가(안)을 통한 우수 제품 선정

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기술 료	제품 화	매출 액	수출 액	고용 창출		투자 유치	논문 SCI	비 SCI			논문 평 균 I F	학술 발표	
단위	건	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건	건
가중치	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
최종목표	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
연구기간	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

분석결과보고서

- 축산 미생물 제제 활용 및 인지도 조사 -

2022. 11.

(재)농축산용미생물산업육성지원센터

목 차

제1장 조사 개요	1
1. 조사 목적	1
2. 조사기간 및 방법	1
3. 조사대상 및 응답현황	1
4. 조사항목 및 분석방법	2
제2장 조사결과 분석	3
1. 참여농가 조사 결과	3
1) 일반현황	3
2) 응답결과 분석	5
2. 주민 의식 조사 결과	30
1) 일반현황	30
2) 응답결과 분석	33
제3장 결론 및 제언	62
1. 분석의 주요 결과	62
2. 시사점 및 제언	64
부록. 설문지	65

<표 목차>

<표 1> 전라북도 미생물 제제 사업 설문 조사항목	2
<표 2> 참여농가 응답자현황	3
<표 3> 농가 기본 현황	9
<표 4> 분뇨처리현황	13
<표 5> 농가 경영 상태	14
<표 6> 농장내 가장 악취가 심한 곳	15
<표 7> 악취발생원인	16
<표 8> 악취 저감 노력 방법 (복수응답)	17
<표 9> 현재 사용방식의 효과정도	18
<표 10> 사용 방식에 따른 효과 정도	18
<표 11> 현재 사용하고 있는 미생물제제 형태	19
<표 12> 미생물제제 효과정도	20
<표 13> 악취저감투자비용	21
<표 14> 미생물제제 지원 사업의 필요성	22
<표 15> 악취 민원의 주된 계절	23
<표 16> 미생물제제 사용 여부	24
<표 17> 미생물제제 종류 사용 수	24
<표 18> 사용하고 있는 미생물제제 종류(복수응답)	25
<표 19> 사료첨가제의 급여량(사료내 비율%)	25
<표 20> 음수첨가제 또는 분뇨처리제 투입횟수 및 투입량	26
<표 21> 미생물제제 사용의 효과성	27
<표 22> 미생물제제 지원사업의 기대효과	28
<표 23> 미생물제제 지원 사업의 필요성	29
<표 24> 응답자 현황	30
<표 25> 지역내 축산업 인지도	34
<표 26> 지역의 축산업 비중	35
<표 27> 지역경제 활성화 기여 산업	36
<표 28> 축산업의 지역경제 활성화 기여도	38
<표 29> 축산업 발전을 위한 중요 항목	39
<표 30> 축산분뇨의 지역환경(악취, 오염 등) 영향 정도	40
<표 31> 축산분뇨가 미치는 심각한 영향	41
<표 32> 거주지에서의 축산분뇨 악취 경험여부	42
<표 33> 축산 악취 강도	43

<표 34> 축산 농가 영향 정도	44
<표 35> 악취 경험 시간대	45
<표 36> 1년 중 악취 경험 개월	46
<표 37> 악취 피해 기간	47
<표 38> 악취 경험 계절(복수)	48
<표 39> 축산악취 민원 요청 여부	49
<표 40> 축산 악취 발생 원인	50
<표 41> 축산 악취 처리 개선 필요성 정도	51
<표 42> 미생물 활용 축산악취 개선 인식 여부	52
<표 43> 미생물 이용 축산악취 저감 사업 진행 의향 동의정도	52
<표 44> 미생물제제 이용 기여 필요도	53
<표 45> 축산 악취 저감 노력의 주된 주체	54
<표 46> 축산분뇨 저감사업이 지역에 미치는 기여도	55
<표 47> 축산 농가 생산성 향상에 대한 기여도	56
<표 48> 축산업 분야 지역경제 활성화 기여도	57
<표 49> 쾌적한 주민생활 환경 기여도	58
<표 50> 재산권 가치 증가 기여도	59
<표 51> 관광자원의 보호 및 활성화	60
<표 52> 축산악취 저감 사업 성공을 위해 가장 필요한 것	61

제1장 조사 개요

1. 조사 목적

- 농림축산식품부, 농림수산식품기술기획평가원 지원아래 (재)농축산용미생물산업육성지원센터가 추진한 ‘**농축산용 미생물 제품 성능 조사 표준 모델 개발**’과제의 일환으로 축산 농가의 미생물제제 이용 현황과 해당 지역 주민의 의식 조사를 통해 미생물제제의 이용 현황을 진단하고 지역 주민들의 의식 조사를 통해 향후 미생물제제 사용의 경제성 분석, 추진방향 설정 및 개선사항 도출을 위한 기초자료로 활용하고자 함.
- 본 조사는 국내 농축산용 미생물 산업의 진흥 및 고부가가치 미생물 제품의 글로벌 시장 진출을 위한 기초자료로서의 활용은 물론 사회전체적인 편익의 크기를 확대하기 위함임.

2. 조사 기간 및 방법

- 조사 기간 : 2021년 9월 ~ 10월
- 조사 방법 : 설문을 통한 면접조사 방식으로 진행

3. 조사 대상 및 응답현황

- 조사 대상 : 축산농가, 일반 지역 주민
- 응답현황 : 설문에 응한 표본 중에서 중복 및 결측이 많은 설문지는 제외하였으며, 분석에 유효한 표본은 참여 농가는 22개였으며, 지역주민은 84명임.
 - (참여농가) 전라북도 정읍시, 장수군, 익산시, 김제시, 충청남도 논산시
 - (일반주민) 전라북도 정읍시, 장수군, 익산시, 군산시, 전주시, 충청남도 논산시

4. 조사항목 및 분석 방법

○ 조사항목은 참여농가와 주민의 의식조사 항목으로 구분하여 세부항목을 구성하였음

- (참여농가) 농가의 일반현황, 악취관련 의식조사, 미생물제제 사용 현황, 인구통계적 변수 영역으로 구분하였으며, 각 세부항목으로 조사하였음.

- (지역주민) 지역의 축산업에 대한 의식 조사 및 축산악취에 대한 의식조사(경험 및 정책, 기대 효과성 등), 인구통계적 변수로 구분하였고, 각 세부항목에 따라 조사하였음.

<표 1> 전라북도 미생물 제제 사업 설문 조사항목

조사 대상	구분	조사항목	
	농가 기초조사	기본 현황	소재지, 양돈경력, 농장경영형태, 사육규모, 농장규모, 연간매출규모
		분뇨처리현황	환기방식, 분뇨처리형태, 생산분뇨처리방식, 분뇨처리시설, 분뇨처리횟수
		농가경영상태	
참여 농가	농장악취관련의식조사	악취장소, 악취발생원인, 악취저감방식(효과, 미생물제제 형태, 지출액), 민원경험, 악취계절, 악취관련비용지불정도	
	미생물제제 사용 현황 및 지원사업의 필요성 조사	미생물제제 사용 여부, 종류, 투입횟수와 투입량, 기대효과, 미생물제제사업 필요성	
	인구통계적 변수	성별, 연령, 직업, 소득수준	
일반 주민	축산업 지역의의식조사	축산업규모정도, 축산업비중, 지역경제활성화기여산업, 축산업의 기여도, 축산업발전에 중요한 것	
	축산악취주민의의식조사	축산분뇨영향정도 및 심각한 영향, 악취발생경험(정도, 축산농가영향정도, 시간대, 계절, 민원신고경험), 축산악취발생원인, 악취처리 개선 필요성, 미생물 이용 개선방법 인식여부 및 사업진행동의정도, 미생물제제 활용 기여도, 악취저감주체, 지역에 미치는 영향(생산성, 산업활성화, 생활환경, 재산권가치, 관광자원), 축산악취저감사업 성공에 필요한 것	
	인구통계적 변수	성별, 연령, 직업, 소득수준, 최종학력	

○ 분석 방법은 엑셀과 SPSS 25.0 통계패키지를 이용하여 해당 분석을 진행함.

제2장 분석결과

1. 참여농가 대상 분석 결과

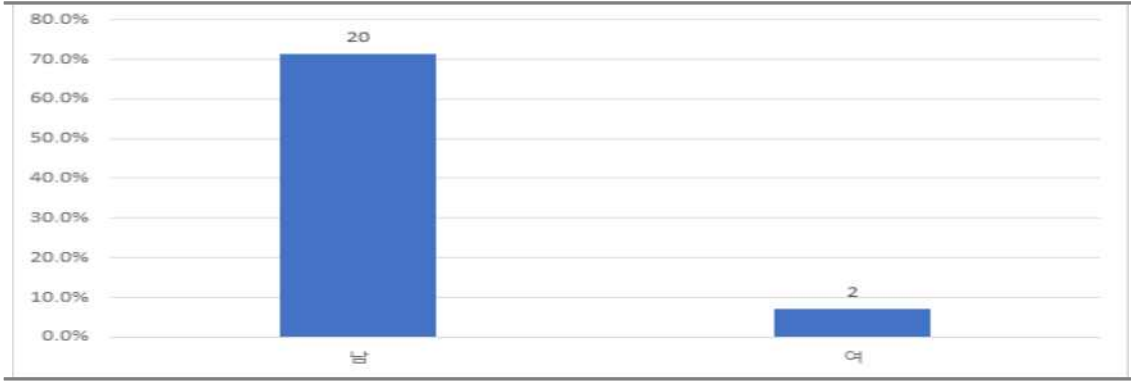
1) 응답자 현황

<표 2> 참여농가 응답자현황

(단위 : 건, 년)

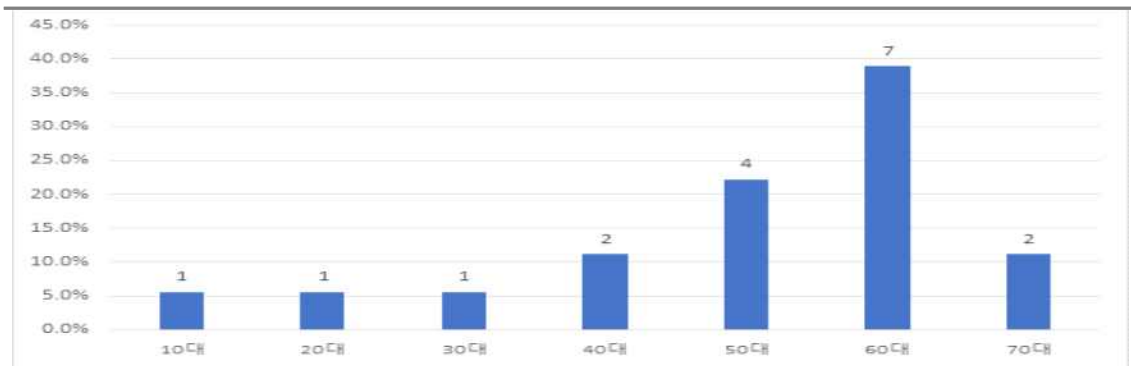
		구분	응답자수	비율
일반 현황	성별	남	20	90.9%
		여	2	9.1%
		응답소계	22	100
	연령	평균	55.1	
		최대 / 최소	71 / 16	
		10대	1	5.6%
		20대	1	5.6%
		30대	1	5.6%
		40대	2	11.1%
		50대	4	22.2%
		60대	7	38.9%
		70대	2	11.1%
		응답소계	18	100
	무응답	4	-	
	직업	축산업	20	90.9%
		전문직	1	4.5%
		기타	1	4.5%
		응답소계	22	100
	소득 수준	1,000만원 미만	4	20.0%
		2,000만원 미만	1	5.0%
		3,000만원 미만	9	45.0%
		5,000만원 미만	2	10.0%
		1억원 미만	1	5.0%
1억원 이상		3	15.0%	
응답소계		21	100%	
무응답		1	-	

○ (성별) 본 설문에 응한 참여농가 응답자는 총 22명으로, 남자가 20명으로 전체 90.9%를 차지하고 여자는 2명으로 9.1%를 차지함.

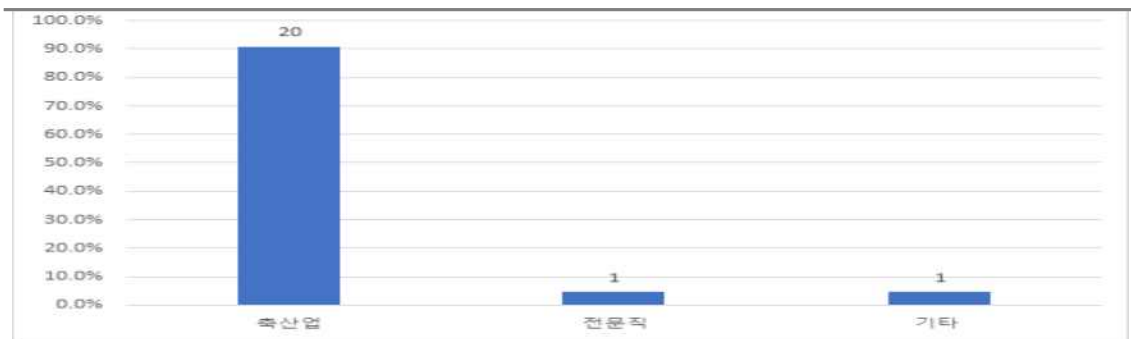


○ (연령) 응답자의 연령은 무응답 4개를 제외한 18개를 대상으로 평균연령은 55.1세이고, 응답자중 최고령자는 71세, 최소연령은 16세였음.

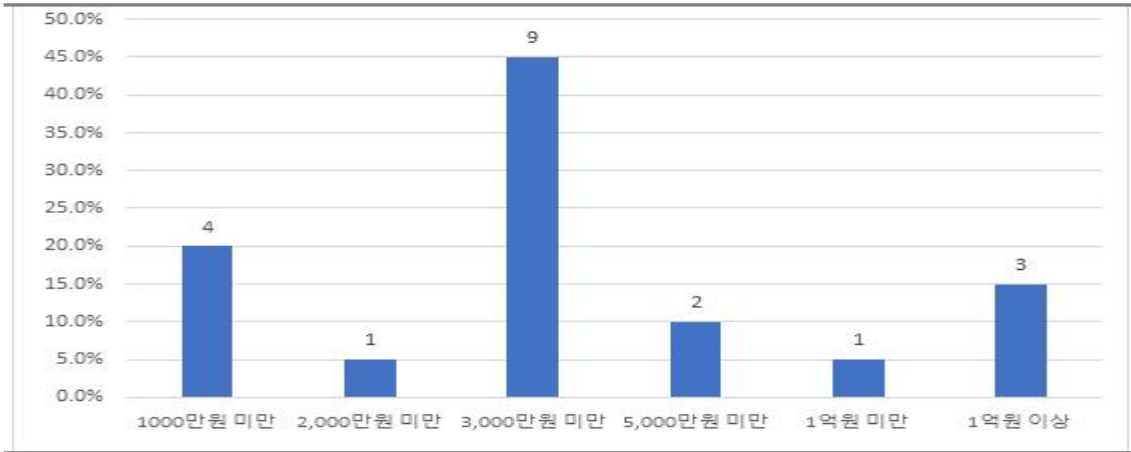
- 연령대는 40대 이하 5명, 50대 4명, 60대가 7명으로 가장 많았고, 70대가 2명으로 나타남.



○ (직업) 응답자의 직업은 22명중 2명을 제외한 20명 90.1%가 축산업 종사자였으며, 전문직 1명, 기타 1명으로 조사되었음.



○ (소득수준) 응답자의 소득수준은 21명이 응답하였으며, 3,000만원 미만이 9명(45%)으로 가장 많았고, 1,000만원 미만 응답자는 4명, 1억원이상이라고 응답한 응답자도 3명으로 나타났다.



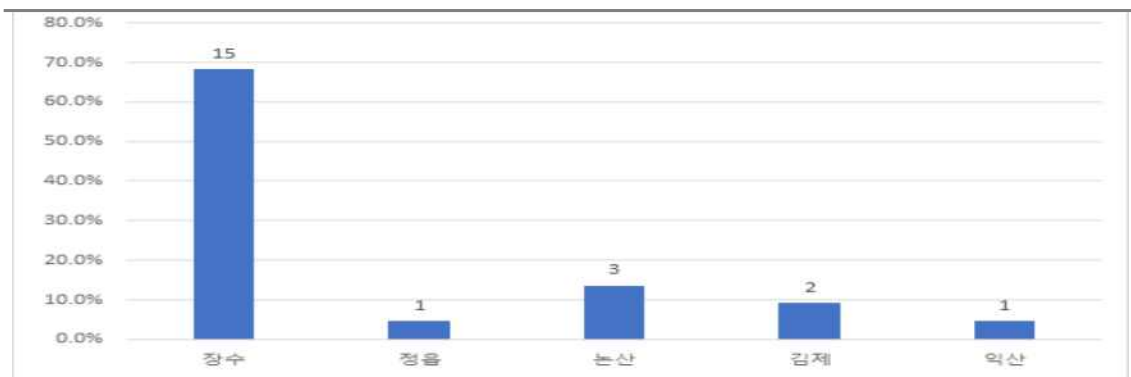
2) 응답결과 분석

(1) 농가 기초 조사

가. 농가 기본 현황

□ 농가 소재지

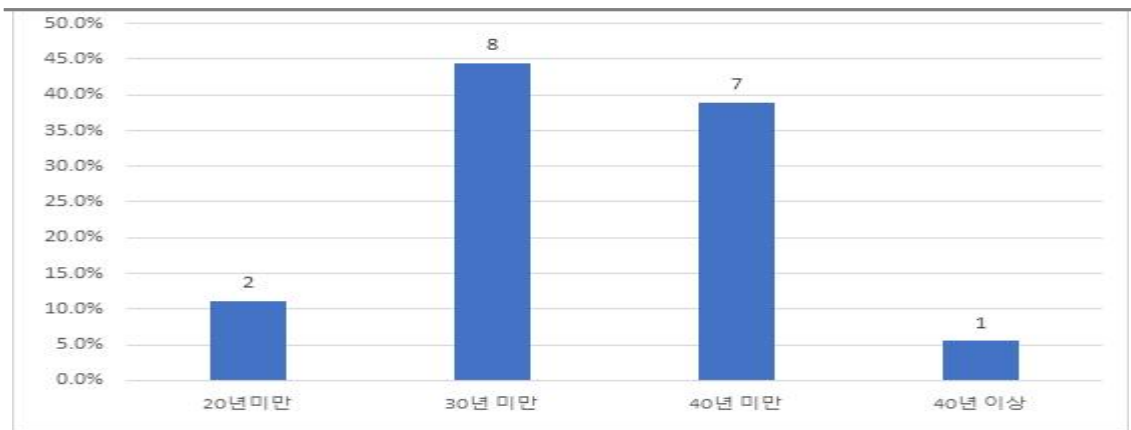
○ 응답자 22명의 농가 소재지는 장수지역이 15명으로 가장 많은 전체 68.2%를 차지하고 있으며, 논산지역 3명, 김제 2명, 정읍과 익산은 각각 1명이었음.



□ 양돈경력(현 소재지 경력)

○ 대표자의 양돈 경력에 대해서는 22명 중 18명이 응답하였으며, 응답자 평균 양돈경력은 25.3년으로 나타났으며, 최소는 10년, 최대는 40년으로 나타남.

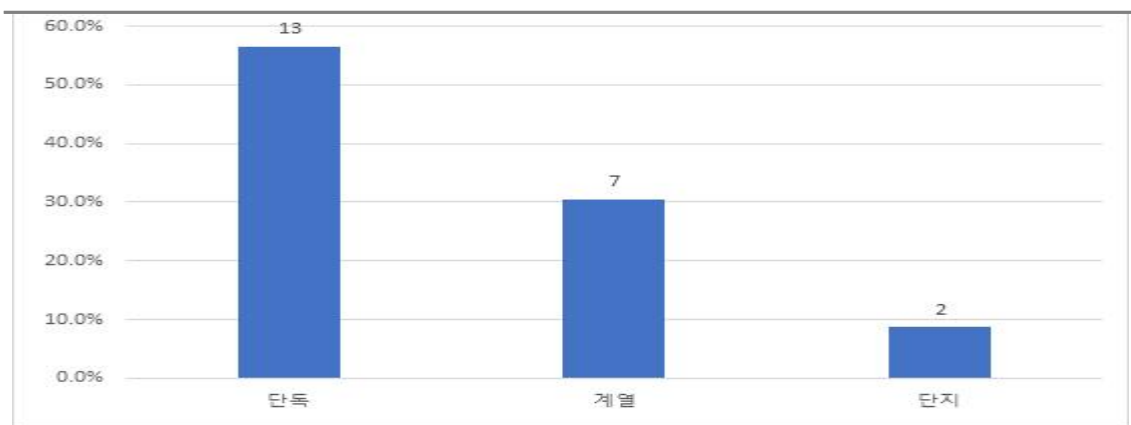
○ 30년 미만이라는 응답이 전체 7건으로 가장 많았고, 40년 미만의 경력은 7건으로 나타났는데 이들은 모두 30년이라고 응답하였으며, 40년이상(40년)은 1건이었음.



<응답자 양돈 경력>

□ 농장경영형태

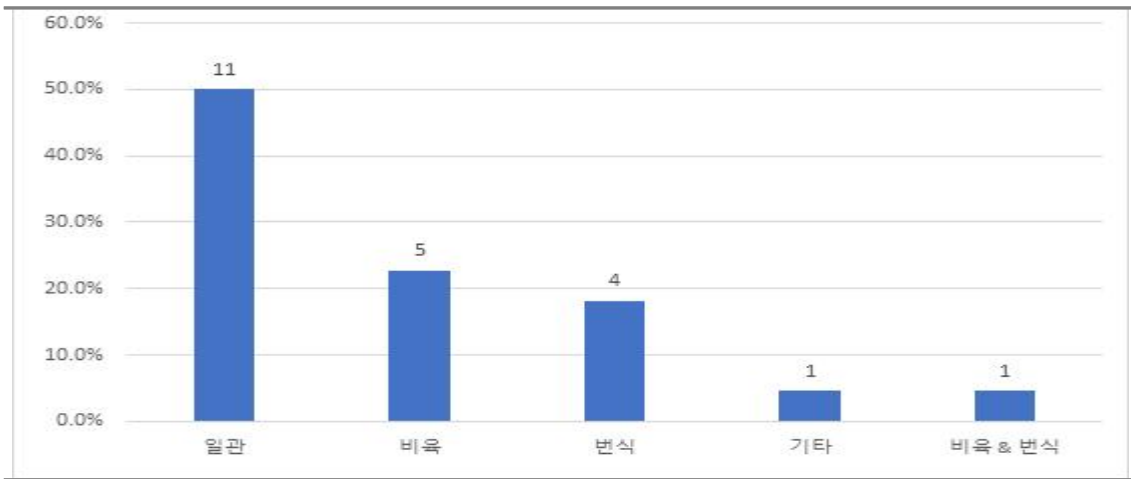
○ 농장의 경영형태는 단독이 13건으로 전체 56.5%를 차지하고 있으며, 계열은 7건(30.4%), 단지 형태는 2건(8.7%)으로 나타남.



<농장경영형태>

□ 사육형태

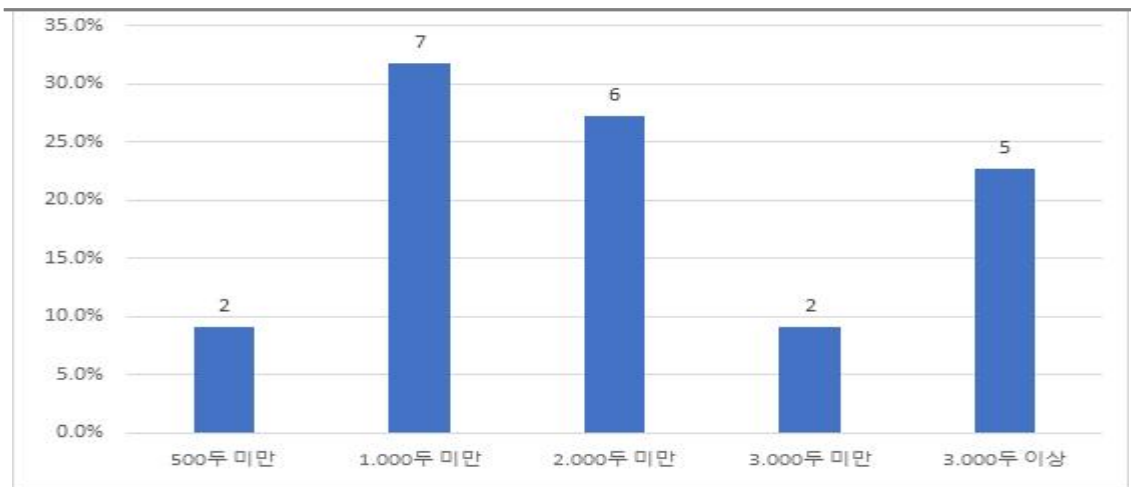
○ 사육형태는 전체 22건 중 절반인 11건이 일관이었으며, 비육은 5건(22.7%), 번식은 4건(18.2%)이었으며, 기타(후보돈체류)는 1건이었고, 비육&번식의 형태를 사용하고 있다는 응답도 1건 있었음.



<사육형태>

□ 사육규모

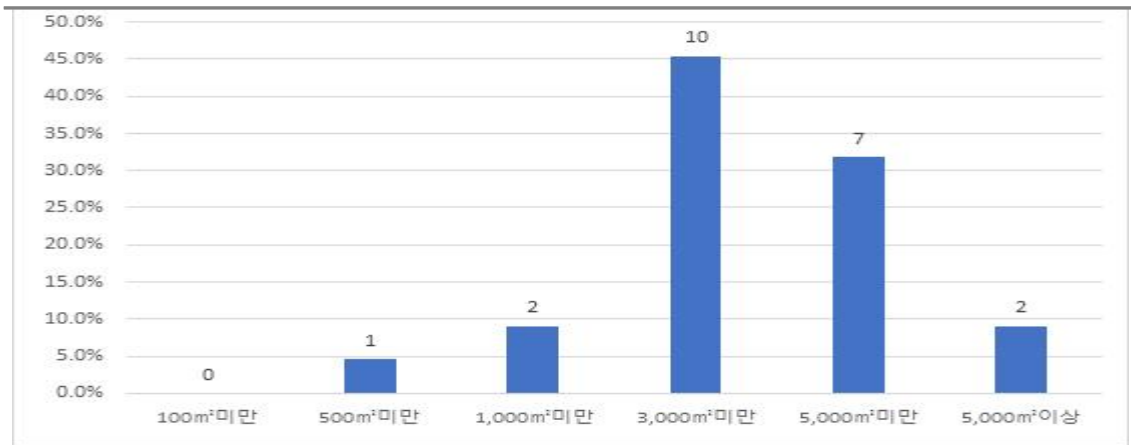
○ 사육규모는 응답건수 22건 중 1,000두 미만이 7건(31.8%)으로 가장 많았으며, 2,000두 미만 이 6건 (27.3%), 3,000두 이상은 5건으로 22.7%를 차지함. 500두 미만과 3,000두 미만은 각각 2건으 로 나타나고 있음.



<사육규모>

□ 농장규모

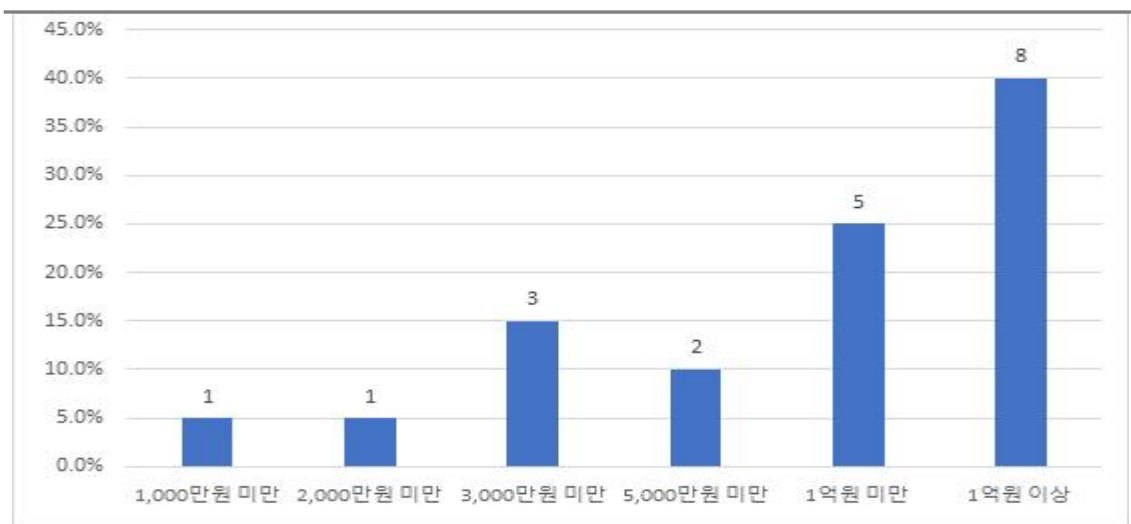
○ 농장규모는 응답건수 22건 중 3,000㎡미만이 10건(45.5%)으로 가장 많았으며, 5,000㎡ 미만은 7건(31.8%)으로 3,000㎡미만과 5,000㎡미만이 전체 77.3%를 차지하고 있음. 5,000㎡이상도 2건이었으며 비교적 적은 면적의 1000㎡미만은 2건, 500㎡미만은 1건으로 나타남.



<농장규모>

□ 연간 매출 규모

○ 연간 매출 규모에 대해서는 응답건수 20건 중 5천만원이상(1억원미만 & 1억원이상)이 13건으로 전체 65%를 차지하고 있으며, 1억원이상은 8건(40%)으로 가장 많았고, 5천만원이상 1억원 미만은 5건으로 나타났음. 3천만원 미만은 5건이며, 5천만원 미만은 2건으로 조사되었음.



<연간 매출규모>

〈표 3〉 농가 기본 현황

(단위 : 건, 년, %)

		구분	응답자수	비율
일반 현황	소재지	장수	15	68.2%
		정읍	1	4.5%
		논산	3	13.6%
		김제	2	9.1%
		익산	1	4.5%
		응답소계	22	100
	양돈 경력	대표자경력(평균)	25.3	
		최소 / 최대	10년 / 40년	
		20년미만	2	11.1%
		30년 미만	8	44.4%
		40년 미만	7	38.9%
		40년 이상	1	5.6%
		응답소계	18	100
	농장 경영 형태	무응답	4	-
		단독	13	56.5%
		계열	7	30.4%
		단지	2	8.7%
		응답소계	22	100
	사육 형태	일관	11	50.0%
		비육	6	22.7%
		번식	4	18.2%
		기타(후보돈체류)	1	4.5%
		비육 & 번식	1	4.5%
		응답소계	22	100
	사육 규모	500두 미만	2	9.1%
		1,000두 미만	7	31.8%
		2,000두 미만	6	27.3%
		3,000두 미만	2	9.1%
		3,000두 이상	5	22.7%
		응답소계	22	100
	농장 규모	100㎡ 미만	0	0.0%
		500㎡ 미만	1	4.5%
1,000㎡ 미만		2	9.1%	
3,000㎡ 미만		10	45.5%	
5,000㎡ 미만		7	31.8%	
5,000㎡ 이상		2	9.1%	
응답소계		22	100	
연간 매출 규모	1,000만원 미만	1	5.0%	
	2,000만원 미만	1	5.0%	
	3,000만원 미만	3	15.0%	
	5,000만원 미만	2	10.0%	
	1억원 미만	5	25.0%	
	1억원 이상	8	40.0%	
	응답소계	20	100	
	무응답	2	-	

나. 분노처리현황

□ 환기방식

○ 분노처리의 환기방식은 응답건수 22건 중 무창방식이 11건으로 절반(50%)을 차지하고 있으며, 반무창, 원치방식, 개방식 각각 2건이었으며, 복수의 방식을 사용하는 농가는 5건임.

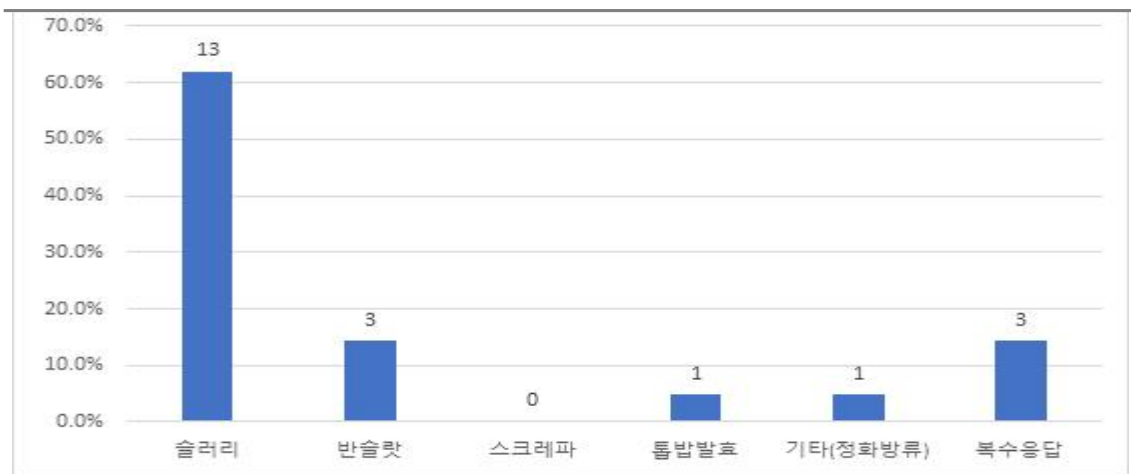
- 복수방식은 무창&반무창, 무창&원치커튼이 각각 2건, 원치커튼&개방식이 1건으로 나타남.



<환기방식>

□ 분노처리형태

○ 분노처리형태는 응답건수 21건중 13건이 슬러리형태가 가장 많았으며, 반슬랏이 3건, 스크레파를 제외한 나머지 형태는 각각 1건으로 나타남. 복수의 처리형태를 사용한다는 응답도 3건이었는데, 이는 슬러리&반슬랏, 슬러리&스크레파, 스크레파&툽밥발효 형태는 각 1건임.

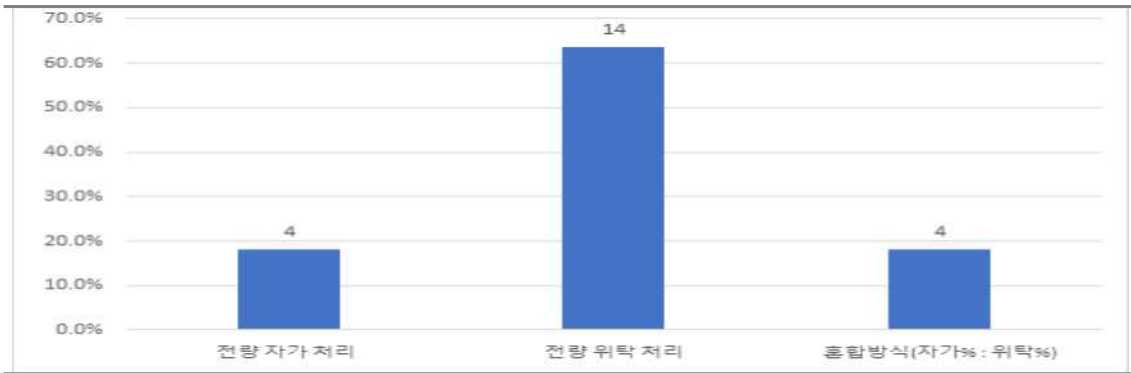


<분노처리형태>

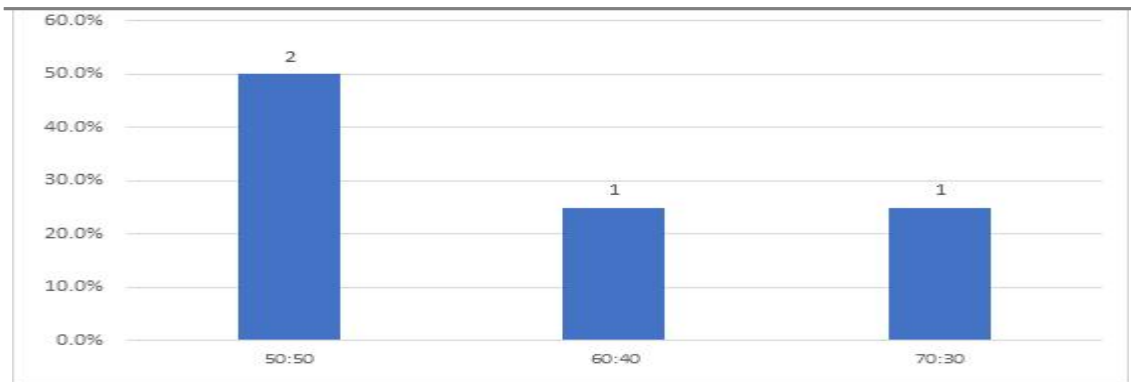
□ 생산분뇨처리방식

○ 생산분뇨처리방식은 전체 22건중 전량 위탁처리방식이 14건으로 가장 많이 사용하고 있었으며, 전량자가처리방식과 혼합방식을 사용한다는 의견도 각각 4건으로 나타남.

- 혼합방식을 사용하는 4건 중 자가:위탁의 비율 50:50이 2건, 60:40은 1건, 70:30은 1건이었음.



<생산분뇨처리형태>

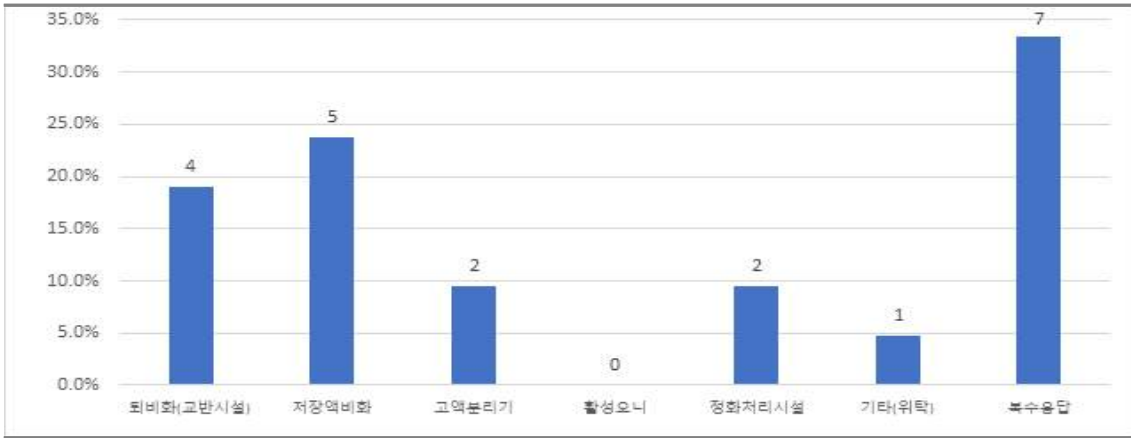


<혼합방식 사용>

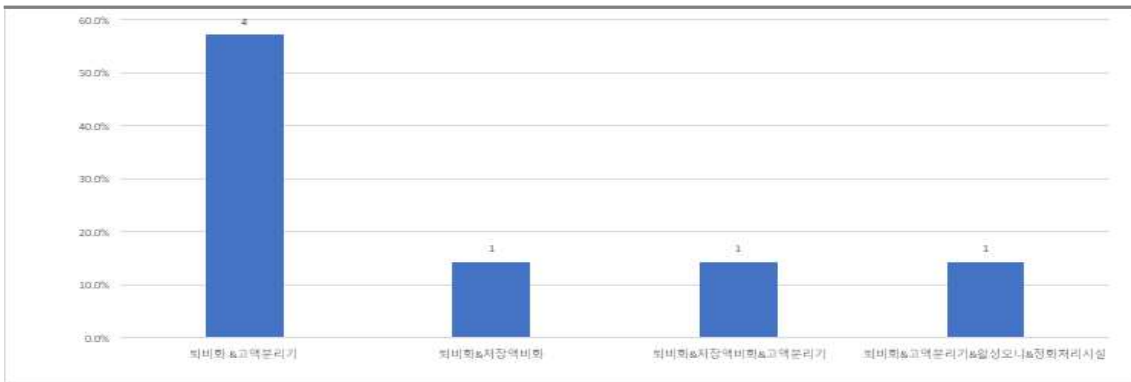
□ 분뇨처리시설

○ 응답자 21명 가운데, 분뇨처리시설을 한가지만 사용한다는 응답자는 14명이며, 2가지 이상을 사용하는 응답자는 7명인 것으로 나타남.

○ 가장 많이 사용하고 있는 시설로는 저장액비화 5건이며, 퇴비화(교반시설)가 4건, 그리고 저장액비화&고액분리기 사용이 4건, 고액분리기와 정화처리시설 사용은 각각 2건으로 나타남. 기타로는 위탁방식이 1건 이었음.



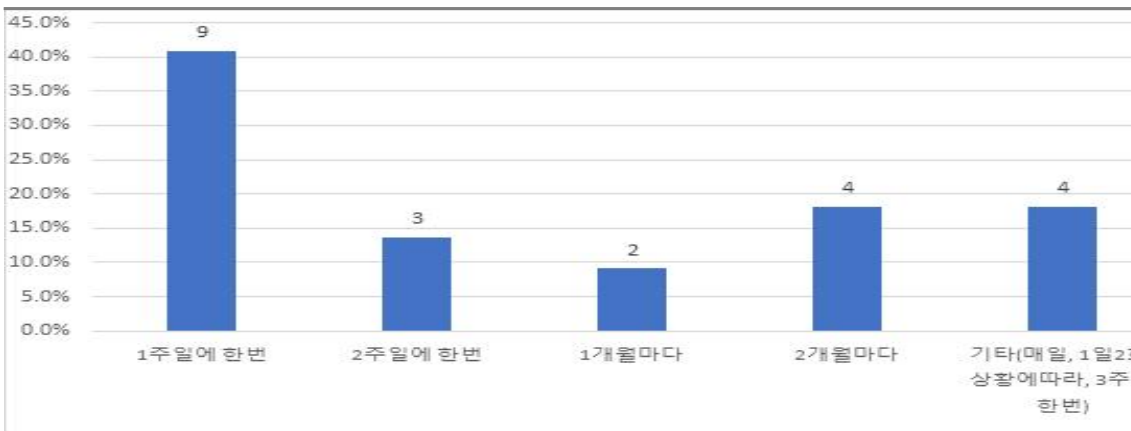
<분뇨처리시설>



<분뇨처리시설/ 복수 시설 사용>

□ 분뇨처리횟수

○ 분뇨처리횟수는 응답건수 22건 중 일주일에 한번이 9건으로 전체 40.9%를 차지하고 있으며, 2개월마다는 4건(18.2%), 2주일에 한번은 3건, 1개월마다는 1건 순으로 나타났음. 기타의건은 총 4건으로 매일, 1주일에 2회, 상황에 따라, 3주에 한번이 있었음.



<분뇨처리횟수>

〈표 4〉 분노처리현황

		구분	응답자수	비율
분노처리 현황	환기 방식	무창	11	50.0%
		반무창	2	9.1%
		원치커튼	2	9.1%
		개방식	2	9.1%
		복수응답	5	22.7%
		- 무창 & 반무창	(2)	(9.1%)
		- 무창 & 원치커튼	(2)	(9.1%)
		- 원치커튼 & 개방식	(1)	(4.5%)
		응답소계	22	100
	분노 처리 형태	슬러리	13	61.9%
		반슬랏	3	14.3%
		스크레파	0	0.0%
		톱밥발효	1	4.8%
		기타(정화방류)	1	4.8%
		복수응답	3	14.3%
		- 슬러리&반슬랏, 슬러리&스크레파, 스크레파&톱밥발효	(각1)	
		응답소계	21	100
		무응답	1	-
	생산 분노 처리 방식	전량 자가 처리	4	18.2%
		전량 위탁 처리	14	63.6%
		혼합방식(자가% : 위탁%)	4	18.2%
		- 50:50(2), 70:30(1), 60:40(1)	(4)	(18.2%)
		응답소계	22	100
	분노 처리 시설 (복수)	퇴비화(교반시설)	4	19.0%
		저장액비화	5	23.8%
		고액분리기	2	9.5%
		활성오니	0	0.0%
		정화처리시설	2	9.5%
		기타(위탁)	1	4.8%
		복수응답	7	33.3%
		- 퇴비화&저장액비화(1), 저장액비화&고액분리기 (4), 퇴비화&저장액비화&고액분리기(1), 퇴비화 &고액분리기&활성오니&정화처리시설(1)	(7)	(33.3%)
		응답소계	21	100
무응답		1	-	
분노 처리 횟수	1주일에 한번	9	40.9%	
	2주일에 한번	3	13.6%	
	1개월마다	2	9.1%	
	2개월마다	4	18.2%	
	기타(매일, 1일2회, 상황에따라, 3주에 한번)	4	18.2%	
	응답소계	22	100	

□ 농가 경영 상태

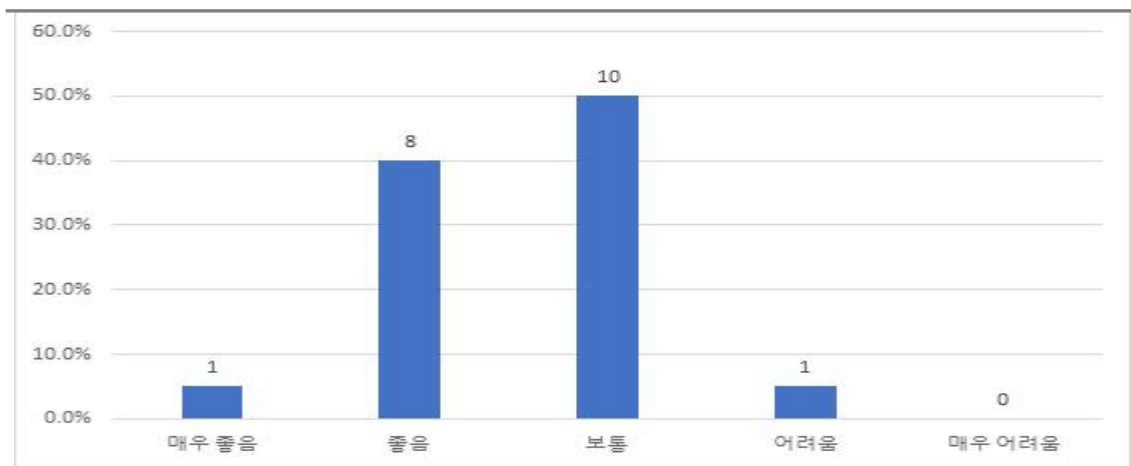
○ 현재 농가 경영 상태에 대해 응답자 20명이 응답하였으며, 평균점수는 2.55점으로 보통이상의 상태를 보이고 있다고 할 수 있음. 매우 좋다는 응답은 1건, 좋음 8건, 보통이 가장 많은 10건, 어렵다는 응답은 1건으로 나타났으며, 현재 농가 상황에 대한 부정적인 응답은 없는 편이라고 할 수 있음.

<표 5> 농가 경영 상태

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
평균 점수		2.55	
경영 상태	매우 좋음	1	5.0%
	좋음	8	40.0%
	보통	10	50.0%
	어려움	1	5.0%
	매우 어려움	0	0.0%
	응답소계	20	100%

* 주 : 평균점수는 낮을수록 경영상태는 양호함



(2) 농장 악취 관련 의식 조사

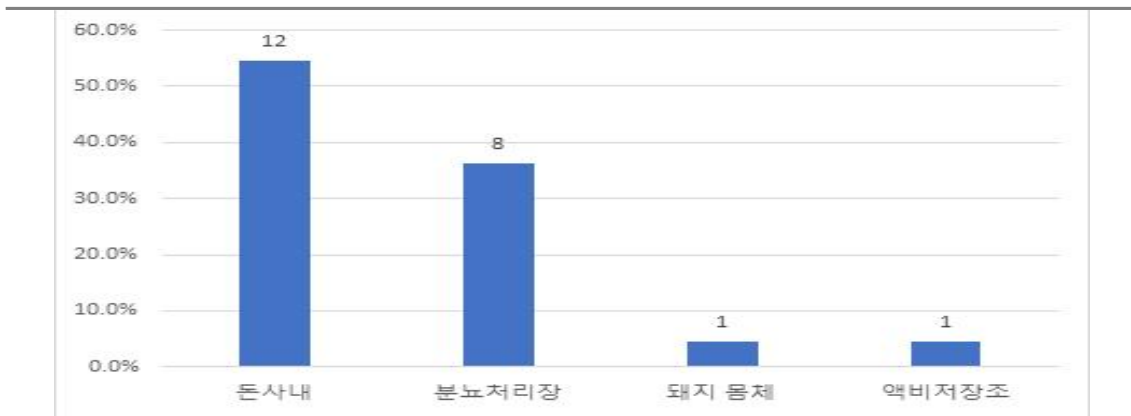
□ 농장 내 악취가 가장 심한 곳

○ 농장 내 가장 악취가 심한 곳에 대해 12명의 응답자는 돈사내라고 응답하였으며, 전체 54.5%를 차지하고 있음. 분뇨처리장이라고 응답한 응답자도 8명(36.4%)이었으며, 돼지몸체, 액비저장조라는 응답자는 각각 1명이었음.

〈표 6〉 농장내 가장 악취가 심한 곳

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
악취장소	돈사내	12	54.5%
	분뇨처리장	8	36.4%
	돼지 몸체	1	4.5%
	액비저장조	1	4.5%
	응답계	22	100%



□ 농장 내 악취 발생 원인

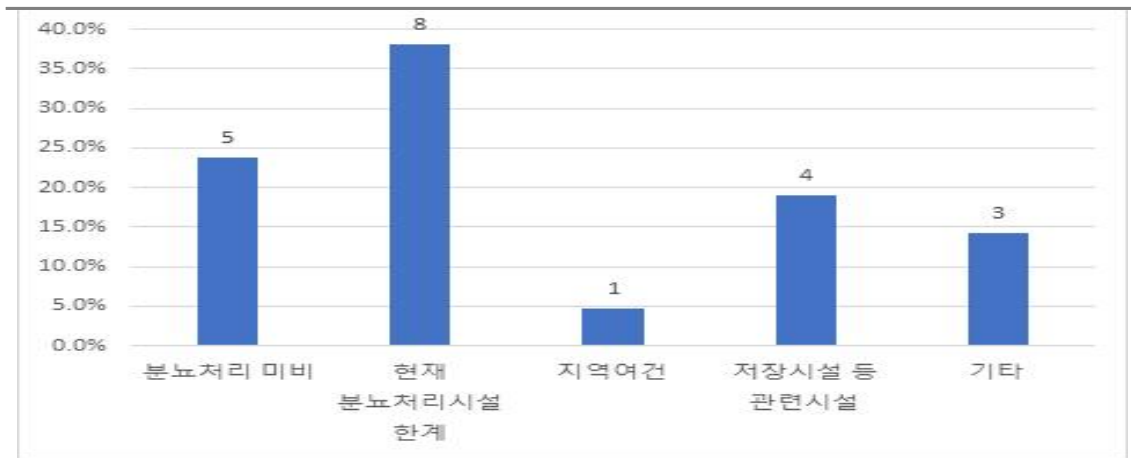
○ 농장 내 악취 발생 원인에 대해 응답은 21건이었으며, 현재의 분뇨처리 시설 한계라는 응답이 8건으로 가장 많았으며, 분뇨처리 미비 5건, 저장시설 등 관련시설 4건 순으로 나타났으며 기타는 3건이 있었음

○ 기타 원인으로는 돈사바닥불량, 악취저감장치 미비, 분뇨에서 냄새라고 응답함.

〈표 7〉 악취발생원인

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
악취 발생 원인	분뇨처리 미비	5	23.8%
	현재 분뇨처리시설 한계	8	38.1%
	지역여건	1	4.8%
	저장시설 등 관련시설	4	19.0%
	기타(돈사바닥불량, 악취저감장치미비, 분뇨냄새)	3	14.3%
	응답 소계	21	100%
	무응답	1	-



□ 악취 저감 노력 방법

○ 악취 저감을 위한 어떤 노력을 하고 있는냐는 질문에 대해 응답자 22명 중 21명은 미생물제를 사용하고 있었으며, 미생물제 한 가지만 사용하고 있다는 응답자는 15명, 2가지 이상의 방법을 사용하고 있다는 복수응답자는 7명이었으며, 이중 6명은 미생물제와 다른 방법을 사용하고 있었음, 또한 3가지 방법을 사용한다는 응답자도 2명으로 나타남.

- 2가지 방법의 복수 응답은 액비 재순환재 적용 & 분뇨처리기간 단축(청소), 미생물제 사용 & 피트내 슬러리 2주간격 배출, 미생물제 사용 & 분뇨처리기간 단축(청소), 미생물제 사용 & 기타(안개분무)라고 응답함.

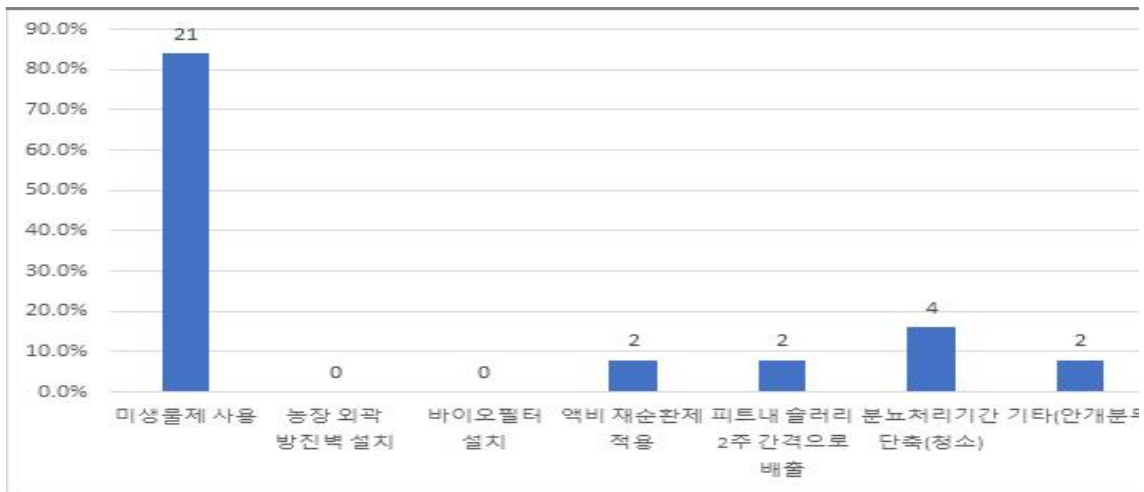
- 3가지 방법의 복수 응답은 미생물제 사용 & 액비재순환재 사용 & 분뇨처리기간 단축과 미생물제 사용 & 피트내 슬러리 2주간격 배출 & 분뇨처리기간 단축(청소)임.

○ 미생물제 사용이 21건으로 가장 많았으며, 분뇨처리기간 단축(청소) 4건, 액비 재순환제 적용, 피트내 슬러리 2주 간격으로 배출하는 방법도 2건으로 나타남.

<표 8> 악취 저감 노력 방법 (복수응답)

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
악취 저감 노력 방법	미생물제 사용	21	84.0%
	농장 외곽 방진벽 설치	0	0.0%
	바이오필터 설치	0	0.0%
	액비 재순환제 적용	2	8.0%
	피트내 슬러리 2주 간격으로 배출	2	8.0%
	분뇨처리기간 단축(청소)	4	16.0%
	기타(안개분무)	2	8.0%
	응답 소계	25	100%



● 현재 사용하고 있는 악취 저감 방식에 대한 효과

○ 농가는 악취 저감을 위한 현재 사용하고 있는 방법의 효과성에 대해 평균점수는 2.43으로 높음과 보통 사이에 위치하고 있으며, '높음'이라는 응답이 10건(47.6%)으로 가장 많았음. 보통은 7건(33.3%), 매우 높음과 낮음은 각각 2건으로 나타났으며, 매우 낮음이라고 응답한 응답자는 없었음.

○ 사용방식에 따른 효과정도를 비교했을 때, 액비재순환제 사용&분뇨기간 처리 단축, 미생물제사용 & 액비재순환제 사용의 경우는 각각 '매우 높음'이었으며, 미생물제 사용은

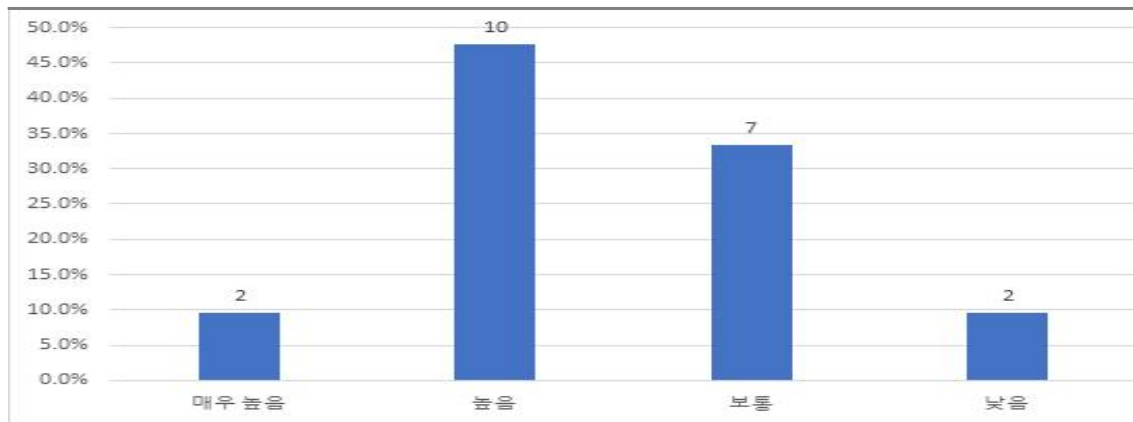
‘높음’ 10건, ‘보통’ 7건, ‘낮음’ 1건, 미생물제&슬러리 배출&분뇨처리기간 단축은 효과가 낮은 것으로 응답하였음.

〈표 9〉 현재 사용방식의 효과정도

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
평균 점수		2.43	
효과정도	매우 높음	2	9.5%
	높음	10	47.6%
	보통	7	33.3%
	낮음	2	9.5%
	매우 낮음	0	0.0%
	응답소계	21	100%

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 효과성은 높음



〈표 10〉 사용 방식에 따른 효과 정도

	효과정도				응답계
	매우높음	높음	보통	낮음	
미생물제 사용 & 액비재순환재사용	1	0	0		1
액비재순환재사용 & 분뇨처리기간 단축	1				1
미생물제	0	10	7	1	18
미생물제&슬러리 2주간격배출&분뇨처리기간 단축	0	0	0	1	1
응답소계	2	10	7	2	21

• 약취 저감을 위해 사용하고 있는 미생물제 형태

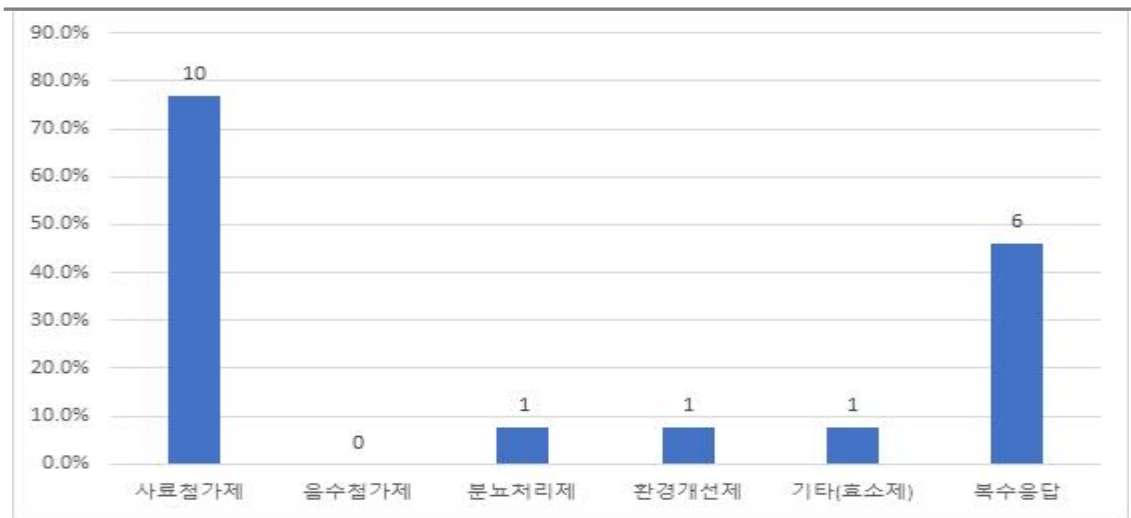
○ 사용하고 있는 미생물제 형태는 응답건수 19건 중 사료첨가제가 10건(52.6%)으로 가장 많았고, 복수의 미생물제제를 사용하고 있다는 응답이 6건이었음.

- 복수 응답 중에서는 2개의 미생물제제를 사용하는 사료첨가제&음수첨가제가 2건, 분뇨처리제&환경개선제 1건이었으며 3개의 미생물제를 사용하는 사료첨가제 & 음수첨가제 & 분뇨처리제가 3건으로 사료첨가제에 이어 두 번째 사용이 많은 것으로 나타났음.

<표 11> 현재 사용하고 있는 미생물제 형태

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
미생물제	사료첨가제	10	52.6%
	음수첨가제	0	0.0%
	분뇨처리제	1	5.3%
	환경개선제	1	5.3%
	기타(효소제)	1	5.3%
	복수응답	6	31.6%
	- 사료첨가제 & 음수첨가제	2	(10.6%)
	- 분뇨처리제 & 환경개선제	1	(5.3%)
	- 사료첨가제 & 음수첨가제 & 분뇨처리제	3	(15.9%)
	응답소계	19	100%
	무응답	3	-



● 사용한 미생물제의 효과 정도

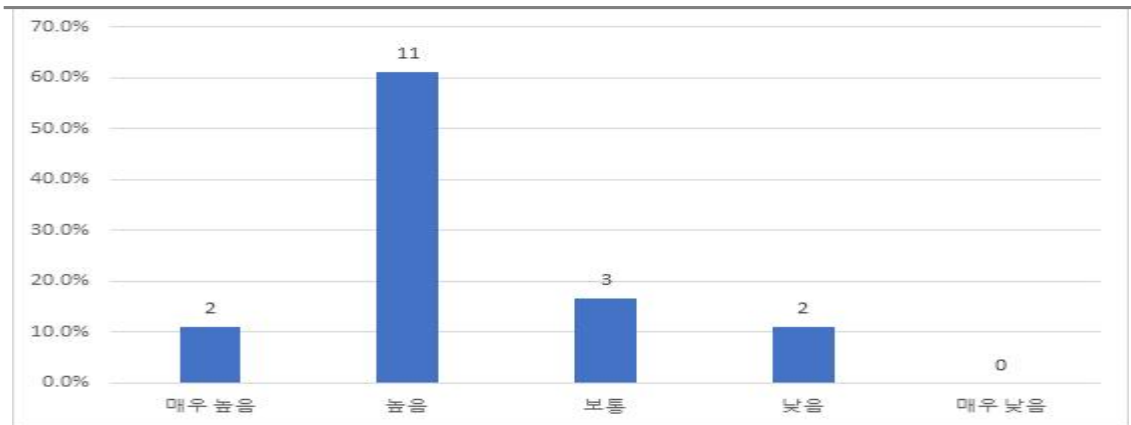
○ 사용하고 있는 미생물제의 효과에 대해 18명이 응답하였으며, 평균점수는 2.27로 효과는 높은 편이라고 할 수 있음. 효과에 대해 긍정적인 답변(매우 높음 + 높음)은 13건으로 전체 72.2%를 차지하고 있어 악취 저감을 위한 미생물제제 사용에 대해 응답자들은 긍정적이라 판단하고 있는 것으로 나타남.

<표 12> 미생물제 효과정도

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
평균 점수		2.27	
효과성	매우 높음	2	11.1%
	높음	11	61.1%
	보통	3	16.7%
	낮음	2	11.1%
	매우 낮음	0	0.0%
	응답소계	18	100%
	무응답	4	-

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 효과성은 높음



□ 악취 저감 투자 비용

○ 농장 악취 저감을 위해 비용 지출에 대한 응답은 14건이었으며, 응답자의 최대금액은 5천만원이었으며, 최소금액은 10만원이었음.

- 투자비용간의 편차가 매우 크기 때문에 응답자들의 중위값을 살펴보면 중위값은 110만원

(100만원과 120만원 사이)이며, 가장 빈도가 높은 값은 100만원과 1000만원이 각각 3명씩 응답하였음.

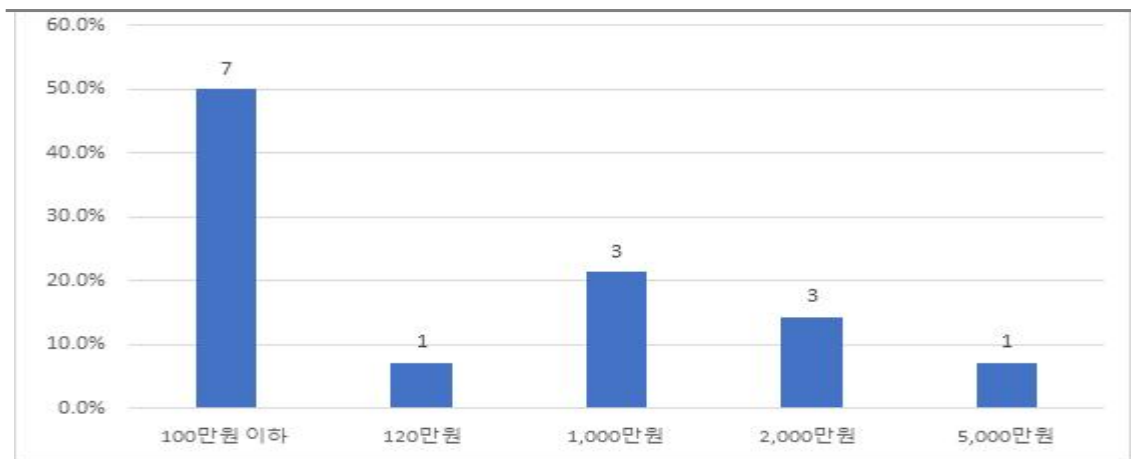
- 100만원 미만의 값들은 10만원이 2건, 50만원, 60만원이 각각 1건, 100만원은 3건이었음

○ 저감 비용을 매출액 대비 비율에 대해서는 3명이 응답하였으며, 2명은 매출액의 2% (천만원응답자, 2천만원 응답자), 1명은 1%(2천만원 응답자)라고 응답함.

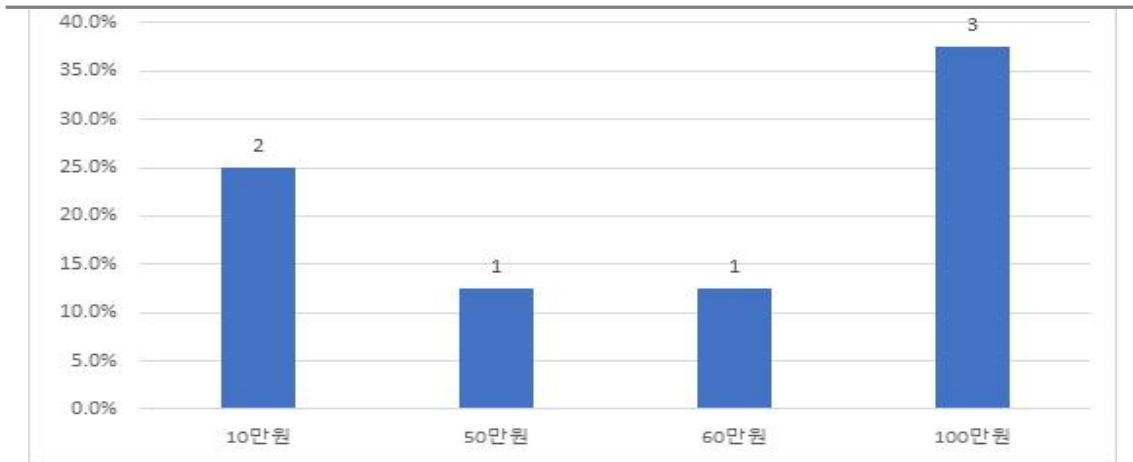
<표 13> 악취저감투자비용

(단위 : 명)

구분		응답자수	비율
투자액	100만원이하	7	50.0%
	120만원	1	7.1%
	1,000만원	3	21.4%
	2,000만원	2	14.3%
	5,000만원	1	7.1%
	응답소계	14	100%
	무응답	8	-



<악취저감 투자비용>



<100만원이하 응답 현황>

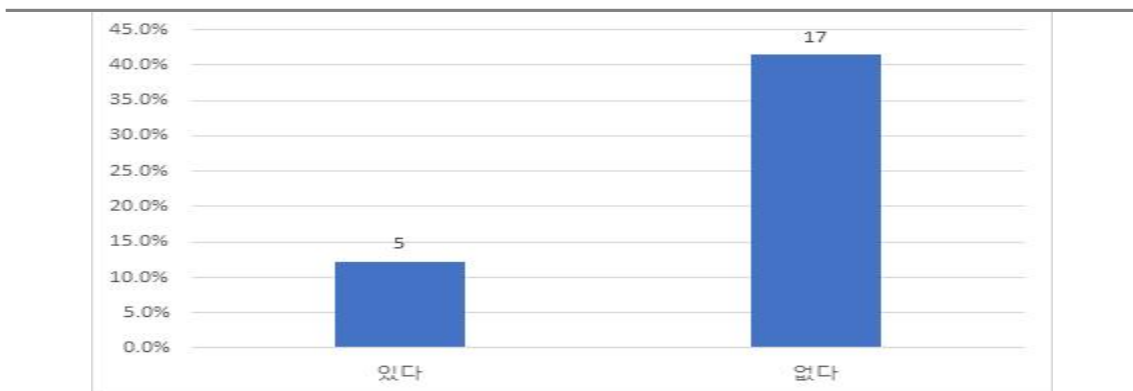
□ 악취 발생으로 민원 발생 경험

○ 농장에서 발생하는 악취로 인해 민원제기를 받은 적이 있냐는 질문에 '있다'는 응답은 5건으로 '없다'는 응답은 17건으로 나타나 민원 발생은 상대적으로 적은 것으로 나타남.

<표 14> 미생물제제 지원 사업의 필요성

(단위 : 명)

구분		응답자수	비율
사용 여부	있다	5	22.7%
	없다	17	77.3%
	응답소계	22	100%

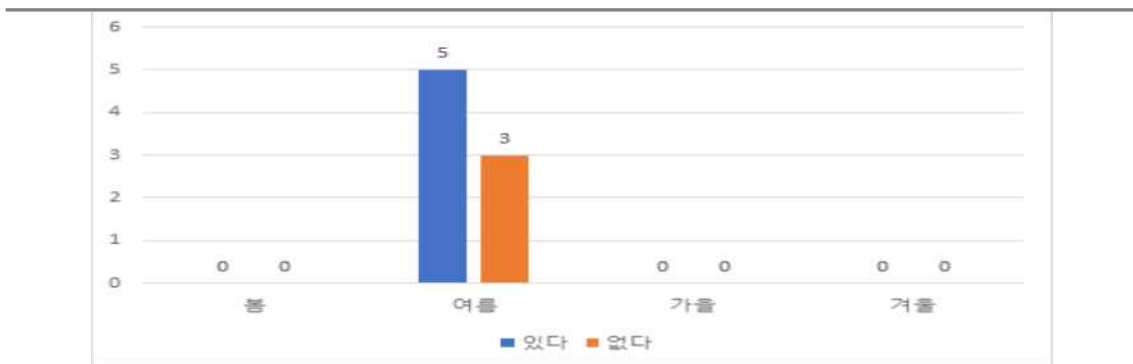


□ 약취 민원의 주된 계절

- 민원 발생의 주요 계절로 응답자는 8명이었으며, 위 질문에서 민원제기를 '받은 적이 있다'고 응답자들 모두 '여름'이라고 응답하였으며, '없다'고 응답한 응답자 3명도 모두 '여름'이라고 응답한 것으로 나타남.

<표 15> 약취 민원의 주된 계절

주요 계절		있다	없다	응답자수	비율
	봄	0	0	0	
여름	5	3	8	100	
가을	0	0	0		
겨울	0	0	0		
응답소계	5	3	8	100%	



□ 농장 약취 발생으로 인한 비용(벌금, 배상액) 지불 현황

- 농장 약취 발생으로 실제 비용을 지불하였다는 응답은 2건이었음

- 1건은 2회에 과태료 60만원을 지불하였으며, 1건은 1회 발생에 금액은 미정이라고 응답하였음

(3) 미생물제제 사용 현황 및 지원사업의 필요성 조사

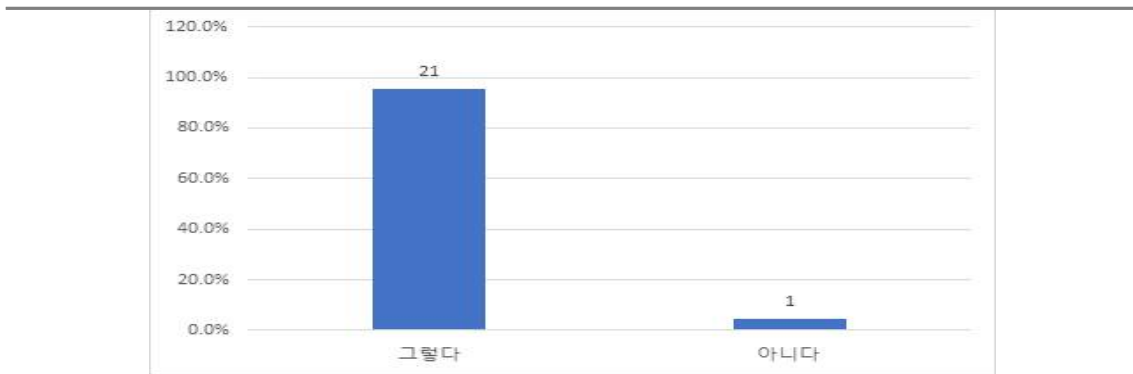
□ 농장의 미생물제제 사용 여부

- 미생물제제 사용 여부에 대해 21명이 '사용하고 있다'고 응답하였으며, 1명은 '사용하지 않는다'고 응답함.

<표 16> 미생물제제 사용 여부

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
사용 여부	그렇다	21	95.5%
	아니다	1	4.5%
	응답소계	22	100%



• 사용하고 있는 미생물 제제 종류

- 제시된 미생물 제제 사용 종류에 대해 물었으나 응답결과 제제 사용은 1가지만 사용하는 것이 아닌 복수로 사용하고 있다는 응답이 훨씬 많았음. 응답자 22명 중에 1가지만 사용은 5명이고, 2가지 사용은 5명, 3가지를 사용하고 있다는 응답이 가장 많은 12건이었음.
- 사용하고 있는 미생물 제제 종류는 복수응답 포함 응답 22건 중 사료첨가제가 18건으로 가장 많았고, 분료처리제가 14건, 음수첨가제가 13건, 환경개선제는 4건으로 나타났음. 기타 의견은 1건으로 효모제를 사용하고 있다고 응답함.

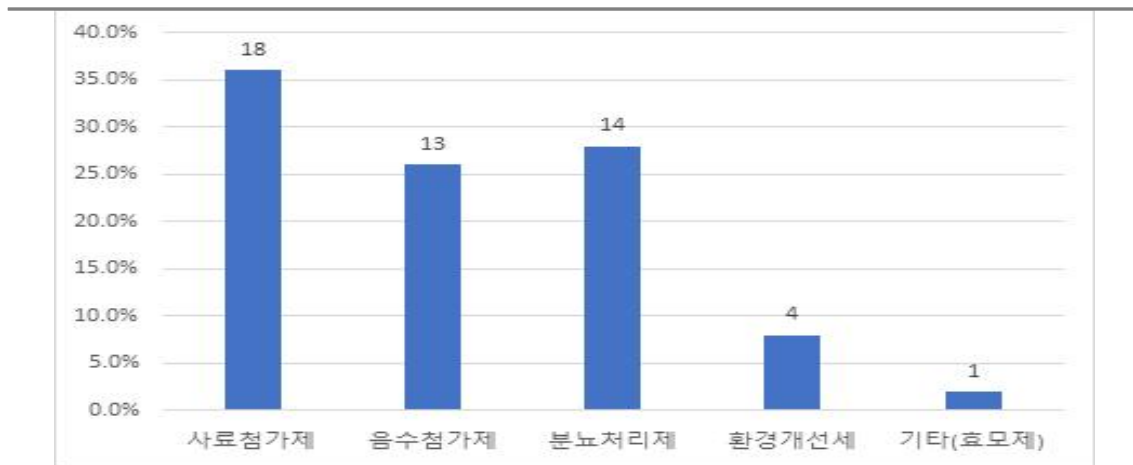
<표 17> 미생물제제 종류 사용 수

구분		응답자수(건)	비율
미생물 제제 종류	1가지	5	36.0%
	2가지	5	26.0%
	3가지	12	28.0%
	응답계	22	100%

<표 18> 사용하고 있는 미생물제제 종류(복수응답)

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
미생물 제제 종류	사료첨가제	18	36.0%
	음수첨가제	13	26.0%
	분뇨처리제	14	28.0%
	환경개선제	4	8.0%
	기타(효모제)	1	2.0%
	응답계	50	100%



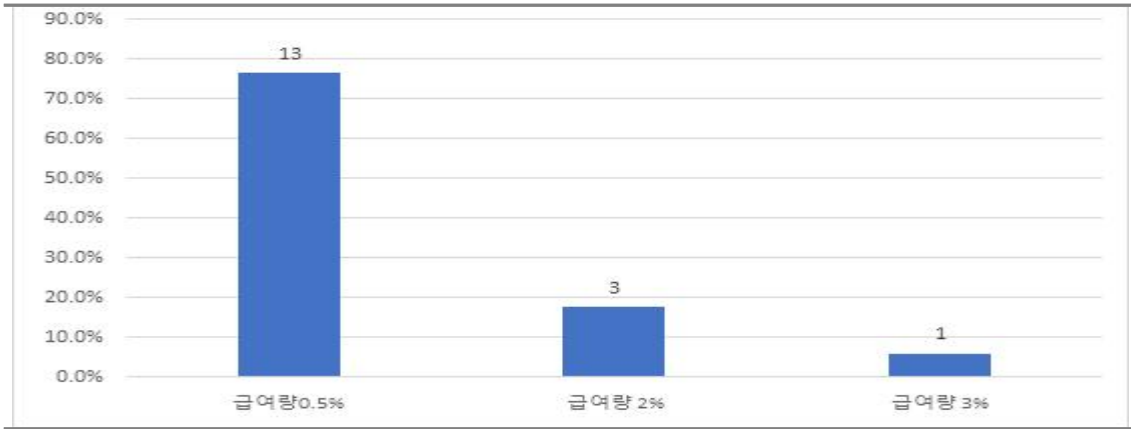
• 사료첨가제의 급여량(사료내 비율 %)

○ 사료첨가제를 사용하고 있다는 응답자 18명 중 17명이 응답하였으며, 사료첨가제의 평균급여량은 0.91%이며, 0.5%이라는 응답이 13건으로 가장 많았고, 2%라는 응답은 3건, 3%라는 응답은 1건으로 나타남.

<표 19> 사료첨가제의 급여량(사료내 비율%)

(단위 : 명)

구분		응답자수	비율
급여량	0.5%	13	76.5%
	2%	3	17.6%
	3%	1	5.9%
	응답소계	17	100%
	무응답	1	-



● 음수첨가제 또는 분뇨처리제의 투입횟수와 투입량

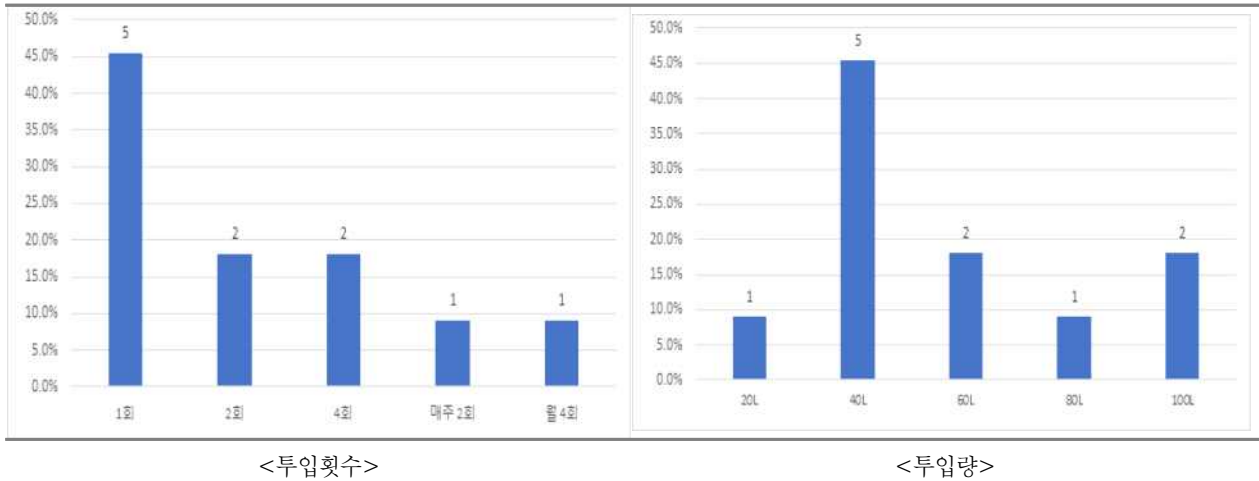
○ 음수첨가제 또는 분뇨처리제를 사용하고 있다는 응답자 27명 중 투입횟수와 투입량에 응답한 응답자는 11명이었음

- 투입횟수는 평균 1.9회였으며, 1회가 5건으로 가장 많았으며, 1회, 4회는 각각 2건이었음. 매주 2회, 월 4회를 사용하고 있다는 응답도 각각 1건이었음.

- 응답자 11건의 평균 투입량(L)은 45.5L였으며, 투입량은 40L가 5건으로 가장 많았고, 60L, 100L라고 응답한 응답자도 각각 2건씩이었음.

<표 20> 음수첨가제 또는 분뇨처리제 투입횟수 및 투입량

구분		(단위 : 명)	
		응답자수	비율
투입횟수	평균	1.9회	
	1회	5	45.5%
	2회	2	18.2%
	4회	2	18.2%
	매주 2회	1	9.1%
	월 4회	1	9.1%
	응답소계	11	100%
투입량	평균	45.5L	
	20L	1	9.1%
	40L	5	45.5%
	60L	2	18.2%
	80L	1	9.1%
	100L	2	18.2%
	응답소계	11	100%



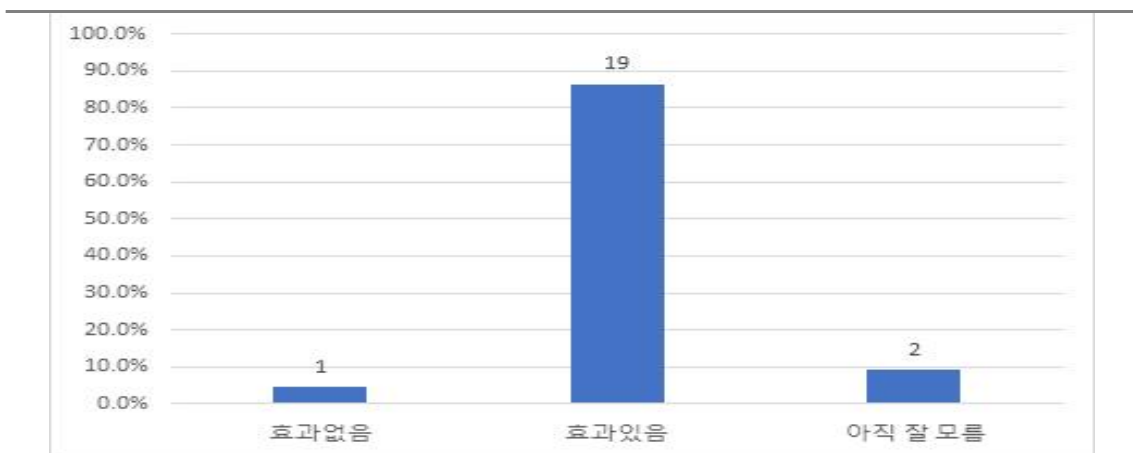
● 미생물제제 사용에 대한 효과성

- 미생물제제 사용의 효과에 대해 22명의 응답자 중 응답자의 86.4%인 19명은 효과가 있다고 응답하였고, 1명만이 효과가 없다고 응답하였음. 잘 모르겠다는 응답도 2명으로 나타남.

<표 21> 미생물제제 사용의 효과성

(단위 : 명)

구분		응답자수	비율
필요성	효과 없음	1	4.5%
	효과 있음	19	86.4%
	아직 잘 모름	2	9.1%
	응답소계	22	100%



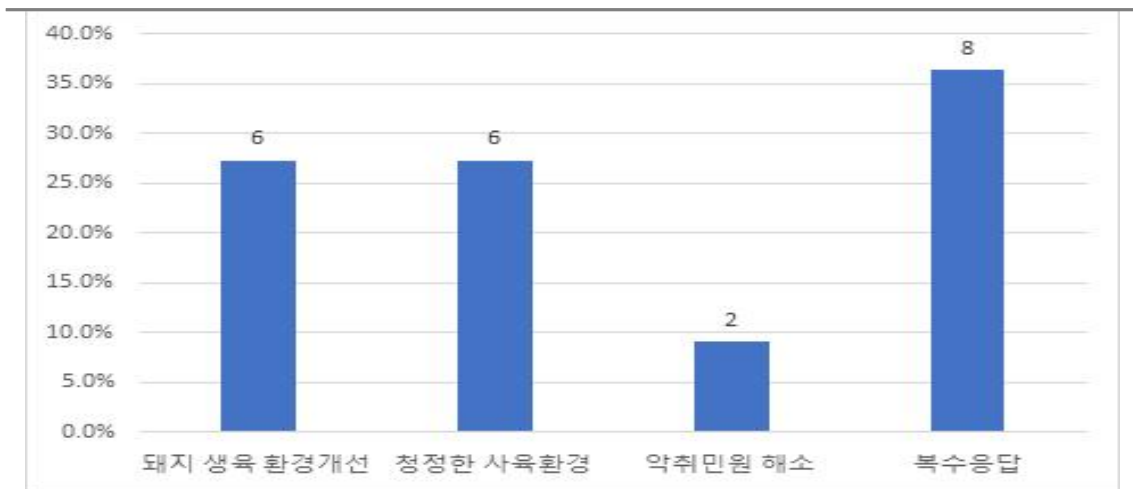
□ 미생물제제 사용에 대한 기대효과

- 미생물제제 사용의 기대효과에 2개이상의 복수로 응답한 비중이 36.4%, 8건으로 가장 많았으며, 단일 효과에 대해서는 돼지생육환경개선과 청정한 사육환경이라는 응답이 각각 6건으로 가장 많았음.
- 약취 민원 해소에 대해서는 2건으로 나타났으며, 미생물제제 사용이 돼지 생육을 통한 생산성 향상을 기대하는 효과를 더 크게 판단하는 것으로 보임.

<표 22> 미생물제제 지원사업의 기대효과

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
기대효과	돼지 생육 환경개선	6	27.3%
	청정한 사육환경	6	27.3%
	약취 민원 해소	2	9.1%
	복수 응답	8	36.4%
	- 돼지 생육 환경 개선 & 청정한 사육 환경	(2)	(9.1%)
	- 돼지 생육 환경 개선 & 약취 민원 해소	(2)	(9.1%)
	- 돼지생육환경개선 & 약취처리비용절감	(1)	(4.5%)
	- 돼지생육환경개선 & 청정한 사육환경 & 양돈의 품질향상	(1)	(4.5%)
	- 돼지생육환경개선&청정한사육환경&기타(작업자환경)	(1)	(4.5%)
	- 돼지생육환경개선&약취민원해소&약취처리비용절감&양돈의 품질향상	(1)	(4.5%)
	응답 계	22	100



□ 향후 미생물제제 지원 사업의 필요성

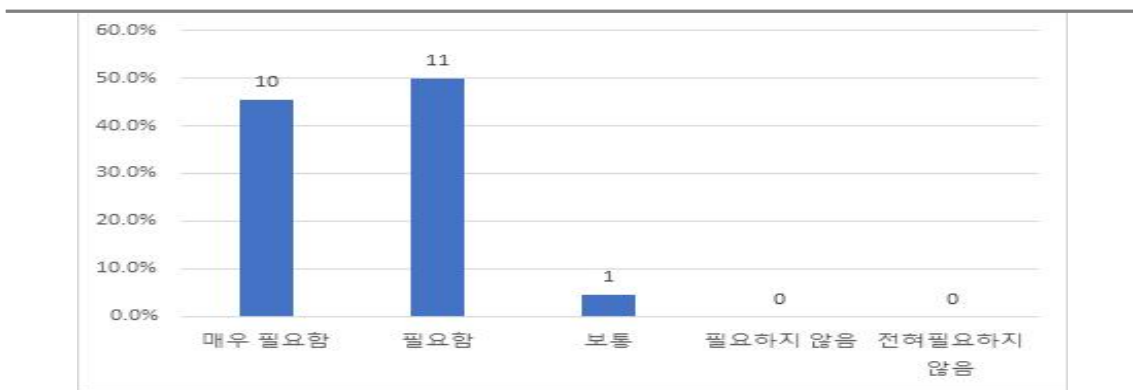
○ 향후 미생물제제 지원 사업의 필요성에 대해서는 응답자들의 평균점수가 1.59로 '매우 필요하다' 라고 느끼고 있으며, '필요하다' 이상(매우필요 + 필요함)의 응답이 21건으로 전체 95.5%를 차지하고 있음. '필요하지 않다' 이상(필요하지 않음 + 매우필요하지않음)의 응답은 나타나지 않았음.

<표 23> 미생물제제 지원 사업의 필요성

(단위 : 점, 명)

구분		응답자수	비율
평균 점수		1.59	
필요성	매우 필요	10	45.5%
	필요함	11	50.0%
	보통	1	4.5%
	필요하지 않음	0	0.0%
	전혀 필요하지 않음	0	0.0%
	응답소계	22	100%

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 필요도는 높음



□ 미생물제제 지원 사업에 대한 건의 및 자유 의견

○ 미생물제제 지원 사업에 대한 건의 내용은 3건이 응답되었으며, 응답결과는 다음과 같으며, 중복 사업 허용 및 사업의 지속성이 필요하다는 의견임.

연번	의견
1	제대로 된 미생물을 사용할 수 있게 해줬으면 좋겠고 미생물 중복사업이 되었으면 좋겠음
2	미생물 2X10 ⁸ 제제로 권장함
3	축산자 보급 사업을 많이 했으면 좋겠고 미생물사업의 지속성이 필요함

2. 주민대상 분석 결과

1) 응답자 현황

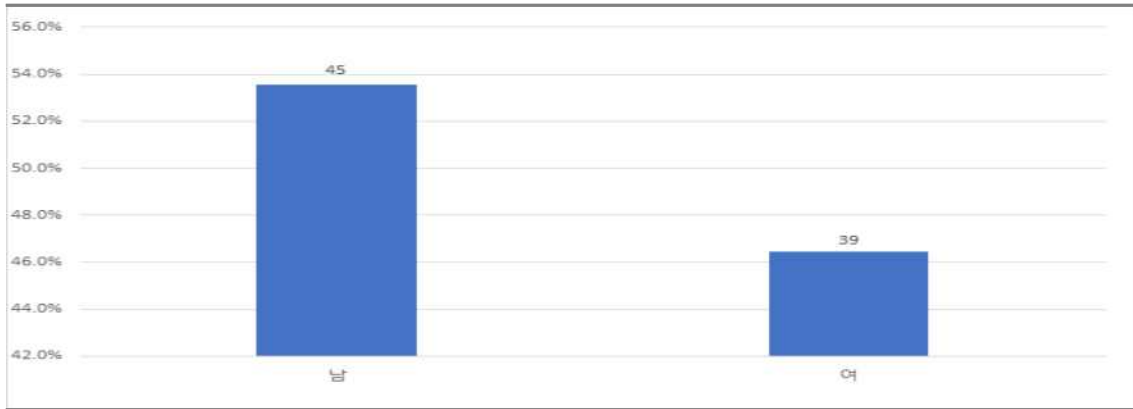
〈표 24〉 응답자 현황

(단위 : 건, 년, %)

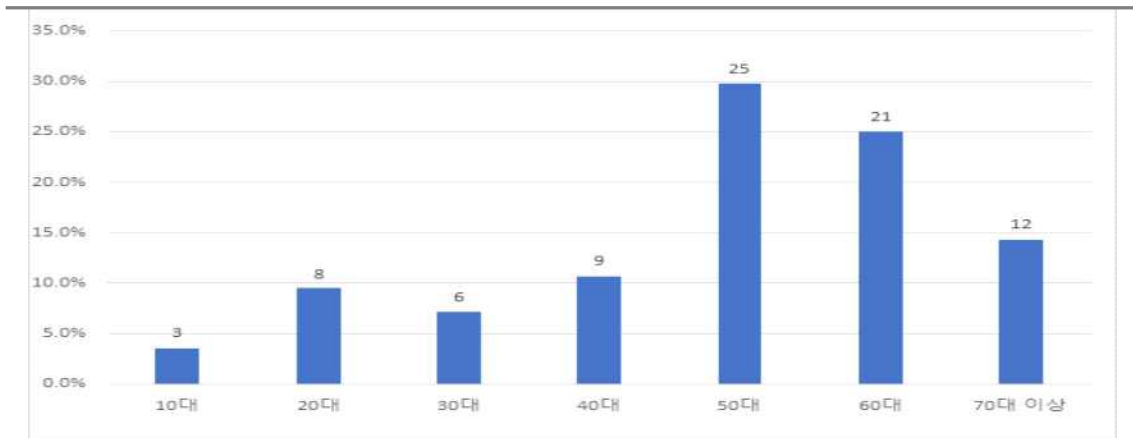
		구분	응답자수	비율
응답자 현황	성별	남	45	53.6%
		여	39	46.4%
		응답소계	84	100
	연령	평균	53.3	
		최소 / 최대	19 / 86	
		10대	3	3.6%
		20대	8	9.5%
		30대	6	7.1%
		40대	9	10.7%
		50대	25	29.8%
		60대	21	25.0%
		70대 이상	12	14.3%
	응답소계	84	100	
	거주지	정읍	32	40.0%
		장수	11	13.8%
		익산	8	10.0%
		논산	20	25.0%
		전주	7	8.8%
		기타(군산, 완주)	2	2.5%
		응답 소계	80	100
		무응답	4	-
	직업	사무직	4	5.1%
		농업	33	41.8%
		기술/제조업	12	15.2%
		서비스업	7	8.9%
		주부	9	11.4%
		무직	4	5.1%
		학생	7	8.9%
기타		3	3.8%	
응답소계		79	100	
무응답	5	-		
소득 수준	1,000만원 미만	20	34.5%	
	2,000만원 미만	8	13.8%	
	3,000만원 미만	17	29.3%	
	5,000만원 미만	9	15.5%	
	5,000만원 이상	4	6.9%	
	응답소계	58	100	
	무응답	26	-	

		구분	응답자수	비율
최종 학력		초등학교 이하	7	10.6%
		중학교 이하	13	19.7%
		고등학교 이하	19	28.8%
		대학교 이하	24	36.4%
		대학원 이상	3	4.5%
		응답소계	66	100
		무응답	18	-

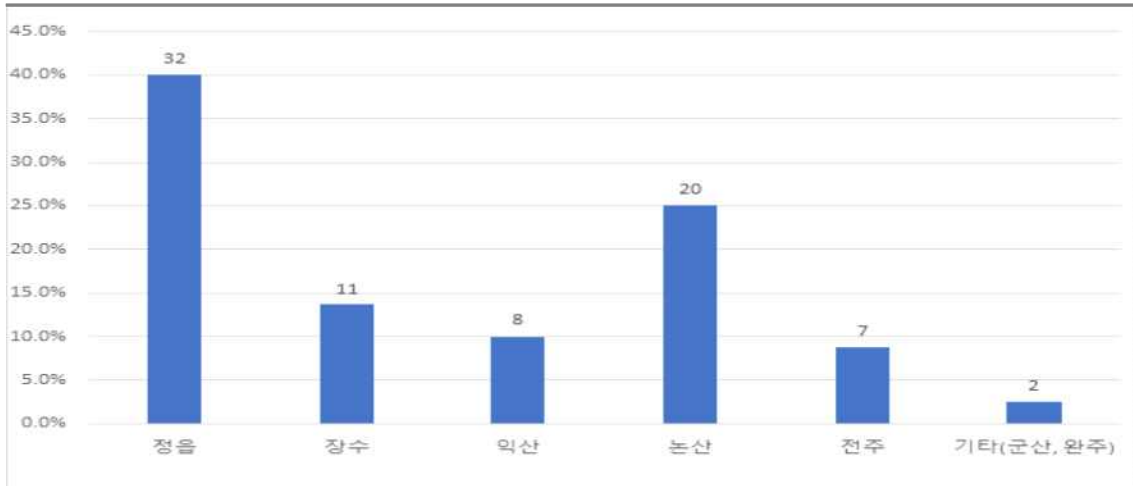
○ (성별) 본 설문에 응한 일반주민 응답자는 총 84명으로 남자가 45명으로 전체 53.6%를 차지하며 여자는 39명(46.4%)임.



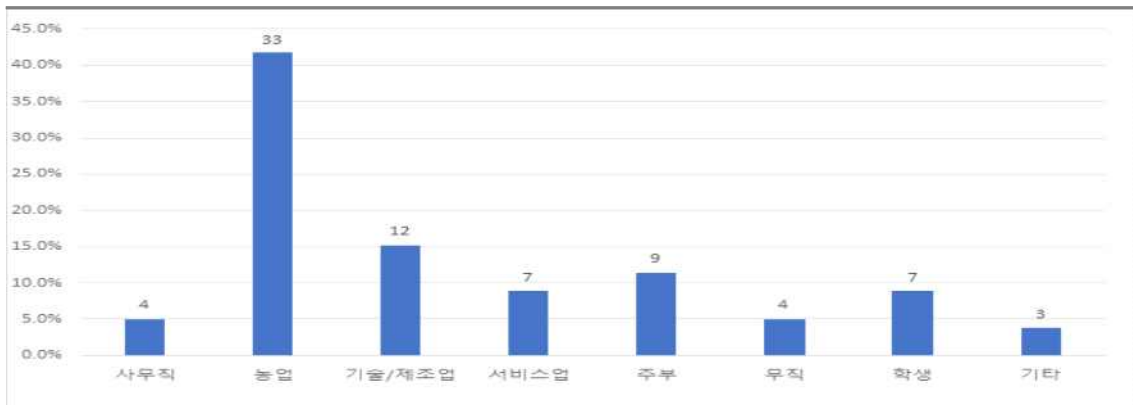
○ (연령) 응답자의 평균연령은 53.3세이며, 최고령자는 86세, 최소연령자는 16세였음. 연령대별로는 50대가 25명(29.8%)으로 가장 많았고, 60대는 21명, 70대 이상은 12명이었으며, 40대 9명, 20대는 8명이었고, 10대 응답자도 3명에 달함.



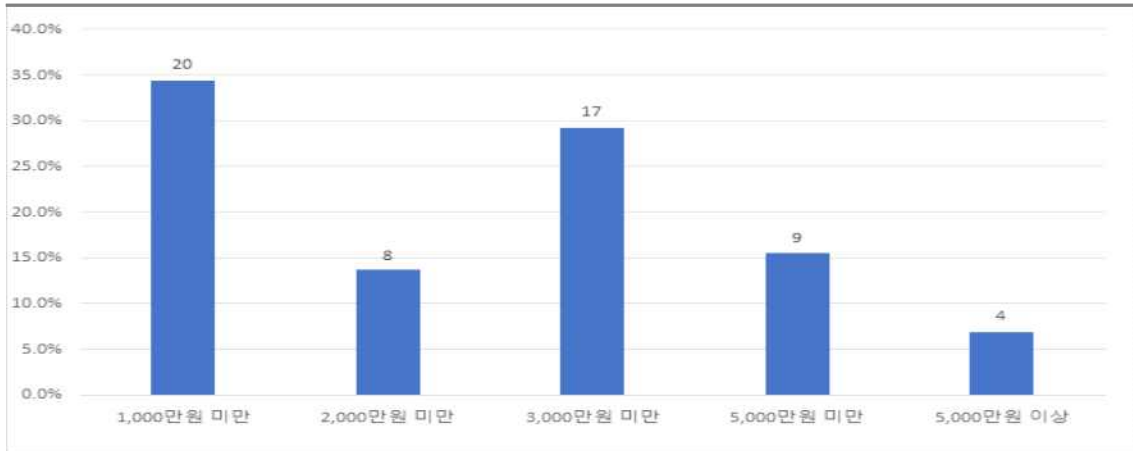
○ (거주지) 응답자 80명의 거주지는 정읍 지역이 32명으로 전체 40%를 차지하고 있으며, 논산지역 20명(25.0%), 장수 11명(13.8%), 익산 8명(10.0%), 전주 7명(8.8%) 순이었음.



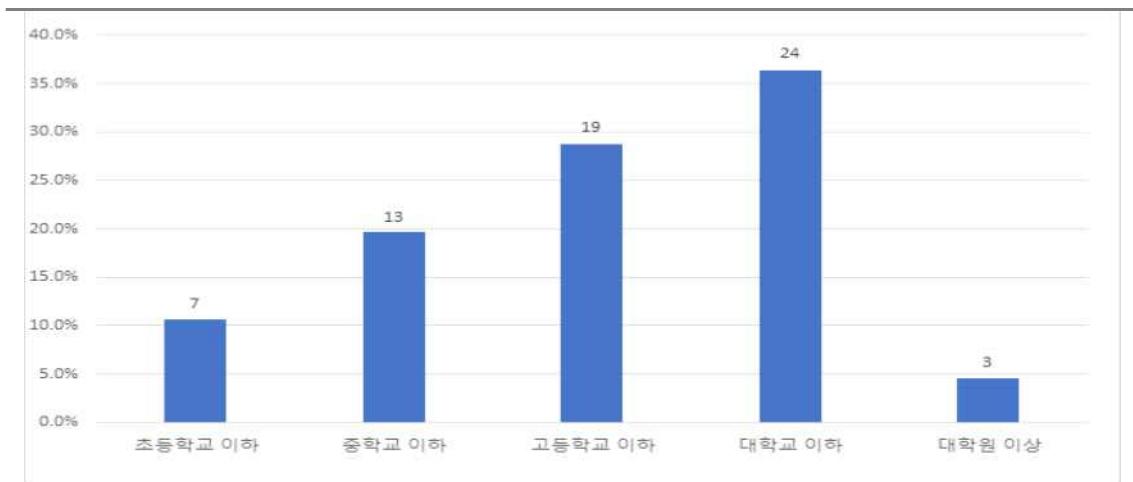
○ (직업) 응답자 79명의 직업군은 농업이 33명(41.8%)으로 가장 많았으며, 기술/제조업은 12명(15.2%), 주부 9명(11.4%), 학생·서비스 각각 7명(8.9%) 순이었음.



○ (소득수준) 소득수준에 응답한 응답자는 58명으로 인구통계적 변수 중 가장 낮은 응답을 보였으며, 1000만원 미만이라고 응답한 사람이 20명(34.5%)으로 가장 많았고, 3,000만원 미만의 응답이 17명(29.3%), 5,000만원 미만은 9명(15.5%), 2,000만원 미만은 7명(13.8)이었으며, 가장 높은 소득의 5,000만원이상의 응답자는 4명(6.9%)이었음.



○ (최종학력) 응답자 66명의 최종학력 분포를 살펴보면, 대학교이하가 24명으로 전체 36.4%를 차지하고 있으며, 고등학교이하는 19명(28.8%), 중학교이하 13명(19.7%), 초등학교이하 7명(7.6%) 순으로 나타남.



2) 분석결과

(1) 축산업에 대한 지역 주민 의식 조사

○ 지역주민의 축산업과 지역 및 지역경제과 관계성에 대한 의식을 묻는 질문으로 조사 항목으로는 지역내 축산업 규모, 축산업 비중, 지역경제의 기여산업, 축산업의 지역경제 기여도, 축산업 발전에 대한 의식조사 등으로 구성하였음.

□ 지역내 축산업 규모에 대한 인지 정도

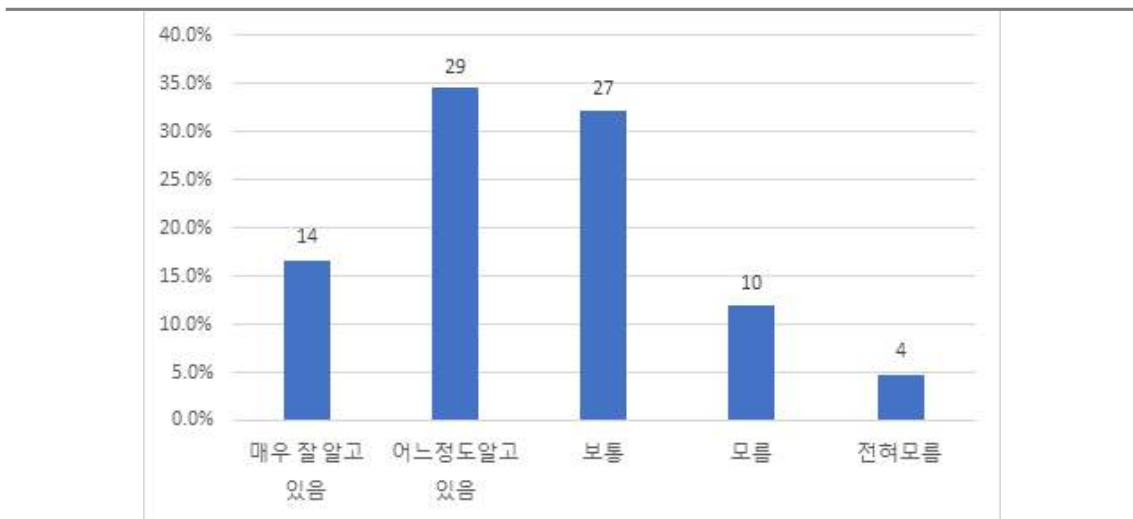
○ 지역주민의 지역내 축산업 규모에 대한 인지 정도는 84명이 응답하였으며, 평균은 2.53점으로 보통에 가까운 어느 정도는 인지는 하고 있는 것으로 볼 수 있음. 분포정도를 보면 '어느 정도 알고 있음'이 29명(34.5%)으로 가장 많았고, 보통은 27명(32.1%), 매우 잘 알고 있음 14명 순이었음. '보통' 응답을 제외한 인지 여부에 대해 '알고 있음'(매우 잘 알 + 어느정도 알고 있음)이 '모른다(모름 + 전혀모름)'는 의견에 비해 3배 정도 많은 것으로 나타남.

<표 25> 지역내 축산업 인지도

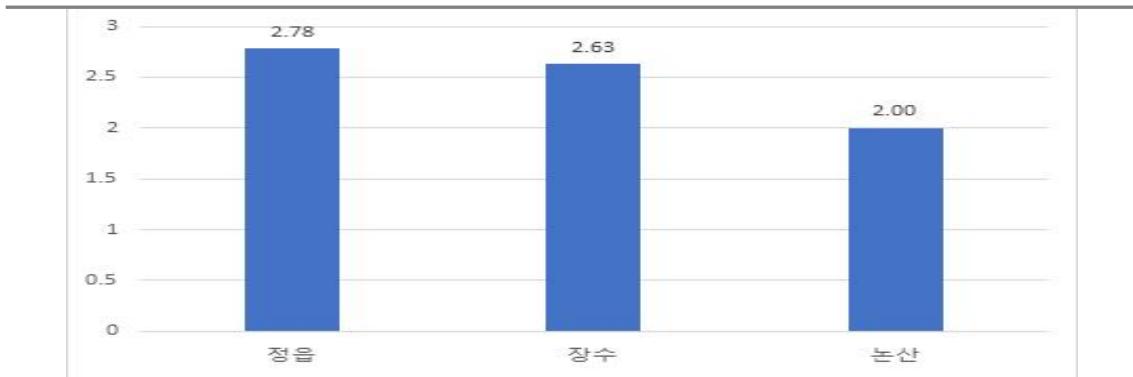
(단위 : 점, 건, %)

구분		응답자수	비율
평균		2.53	
인지도	매우 잘 알고 있음	14	16.7%
	어느 정도 알고 있음	29	34.5%
	보통	27	32.1%
	모름	10	11.9%
	전혀 모름	4	4.8%
	응답소계	84	100.0%

주 : 평균 점수가 낮을수록 인지도는 높음



○ 거주지역별 축산업의 인지도를 보면, 응답자가 가장 많은 세지역(정읍, 장수, 군산)을 비교하였을 때 평균점수가 가장 낮은 논산지역의 인지도가 가장 높았으며, 장수, 정읍 순이었음.



<거주지역별 지역내 축산업 규모 인지도>

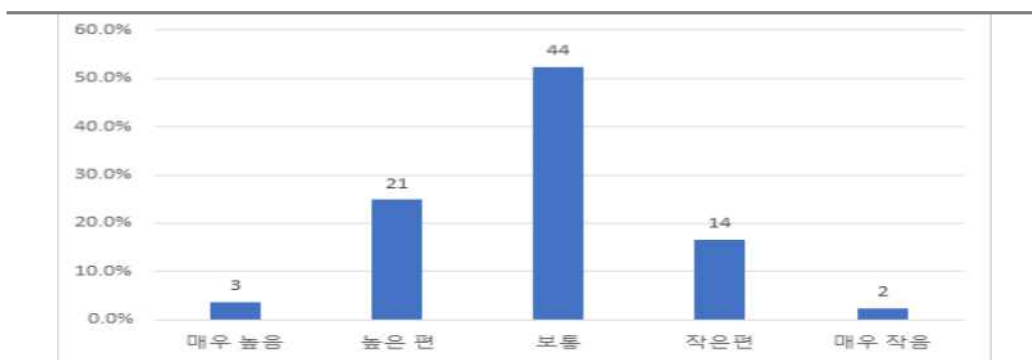
□ 지역 축산업 비중

○ 지역의 축산업 비중에 대해 응답자 84명 중 44명의 절반 이상은 보통이라고 평가하였고, 높은 편이라는 응답은 21명으로 25%를 차지하고 있었으며, 14명(16.7%)는 작은 편이라고 평가하였음.

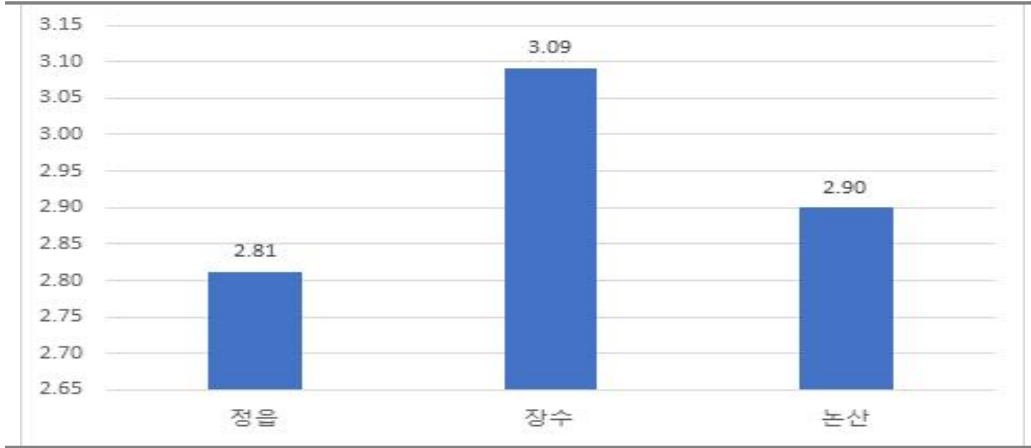
<표 26> 지역의 축산업 비중

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균점수		2.9	
축산업 비중	매우 높음	3	3.6%
	높은 편	21	25.0%
	보통	44	52.4%
	작은 편	14	16.7%
	매우 작음	2	2.4%
	응답소계	84	100



- (거주지역별 축산업 비중) 거주지역별 축산업 비중에 대한 평가에 대해서는 정읍 주민들이 장수, 논산에 비해서는 높은 쪽으로 평가하고 있음.



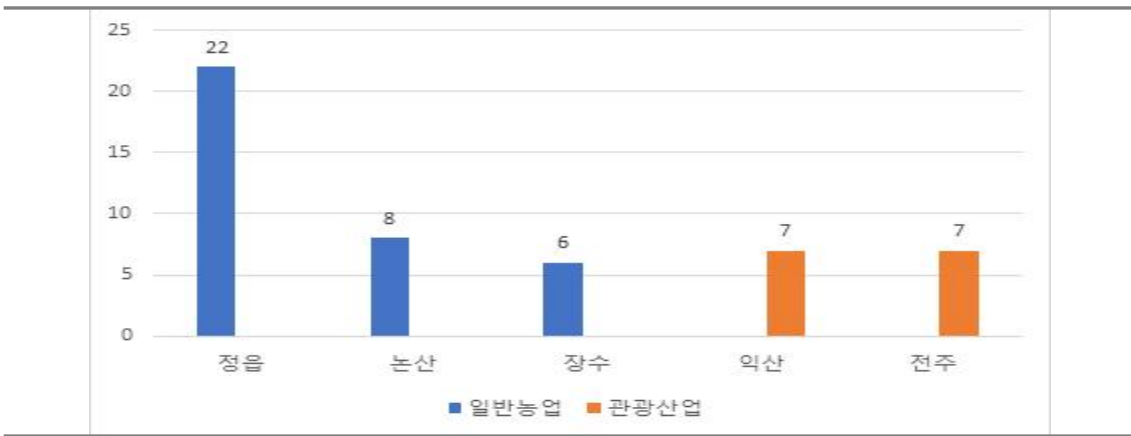
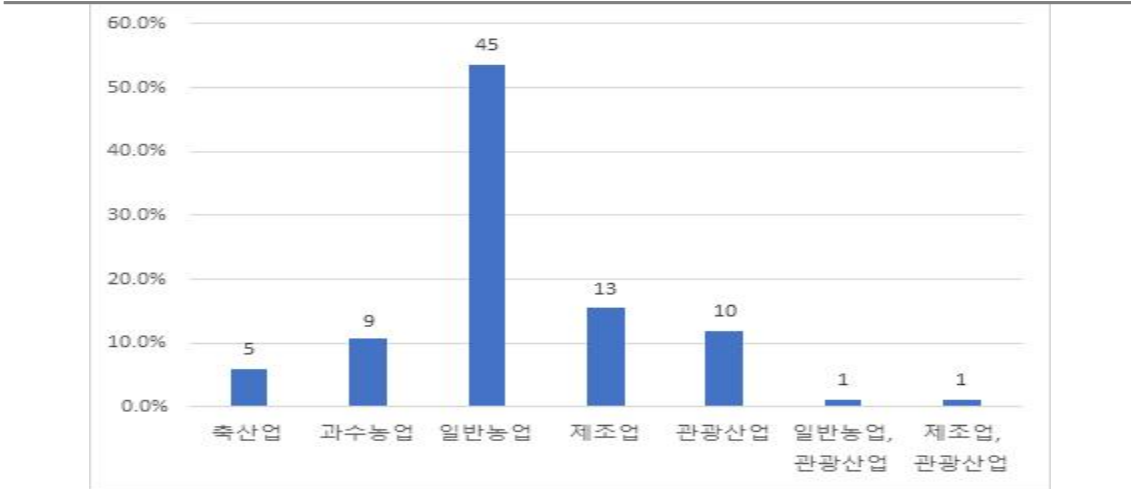
□ 지역경제 활성화에 가장 기여하는 산업

- 지역주민들은 거주 지역의 경제 활성화에 가장 기여하는 산업으로 45명(53.3%)이 '일반농업'(45명, 53.3%)이라고 응답하였고, 제조업(13명), 관광산업(10명), 과수농업(9명) 순으로 나타남. 축산업이라는 응답은 5명이었으며, 전체 6.0%를 나타내고 있음.
- 각 지역별로 가장 많이 응답한 산업을 보면, 정읍, 장수, 논산은 일반농업, 익산, 전주는 관광산업이라고 응답하였음.

<표 27> 지역경제 활성화 기여 산업

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
지역경제 활성화 기여산업	축산업	5	6.0%
	과수농업	9	10.7%
	일반농업	45	53.6%
	제조업	13	15.5%
	관광산업	10	11.9%
	일반농업, 관광산업	1	1.2%
	제조업, 관광산업	1	1.2%
	응답소계	84	100



<지역별 지역경제 기여도가 가장 높은 산업>

□ 축산업의 지역경제 활성화 기여도

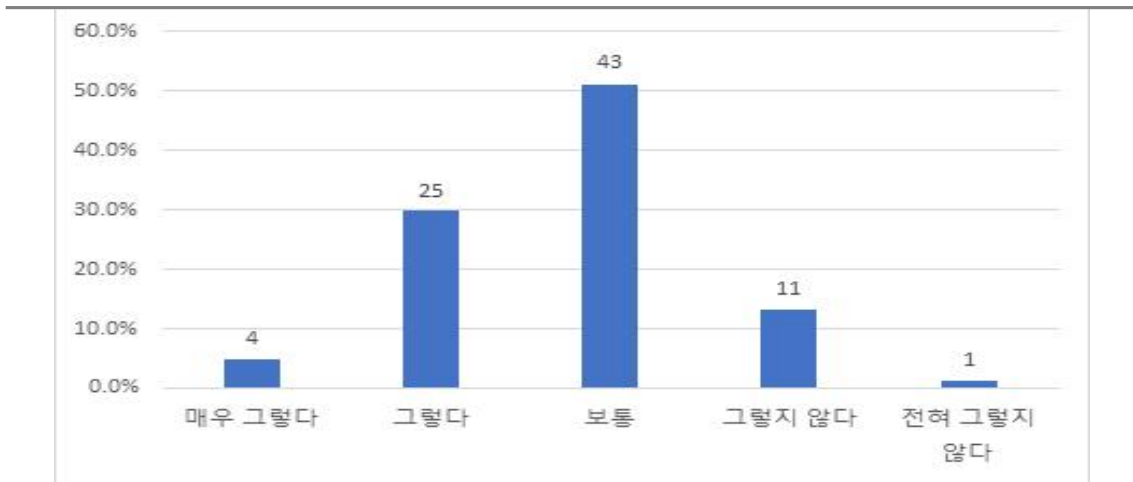
○ 축산업의 지역경제 활성화 기여도에 대한 응답으로는 평균점수가 2.8점으로 보통이라고 평가 하였으며, 분포도를 살펴보면 ‘보통’이라는 응답이 43명으로 절반 이상을 차지하고 있으며, ‘그렇다’는 응답은 25명으로 약 30%를 차지하는 것으로 나타남. ‘그렇지 않다’는 의견도 11명으로 13.1%를 나타내고 있지만, 보통을 제외한 기여도의 긍정적인 응답(29명, 34.6%)은 부정적인 응답(12명, 14.3%)에 비해서는 많은 것으로 나타나고 있음.

〈표 28〉 축산업의 지역경제 활성화 기여도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
축산업 기여도	평균	2.8	
	매우 그렇다	4	4.8%
	그렇다	25	29.8%
	보통	43	51.2%
	그렇지 않다	11	13.1%
	전혀 그렇지 않다	1	1.2%
	응답 소계	84	100.0%

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 기여도는 높음



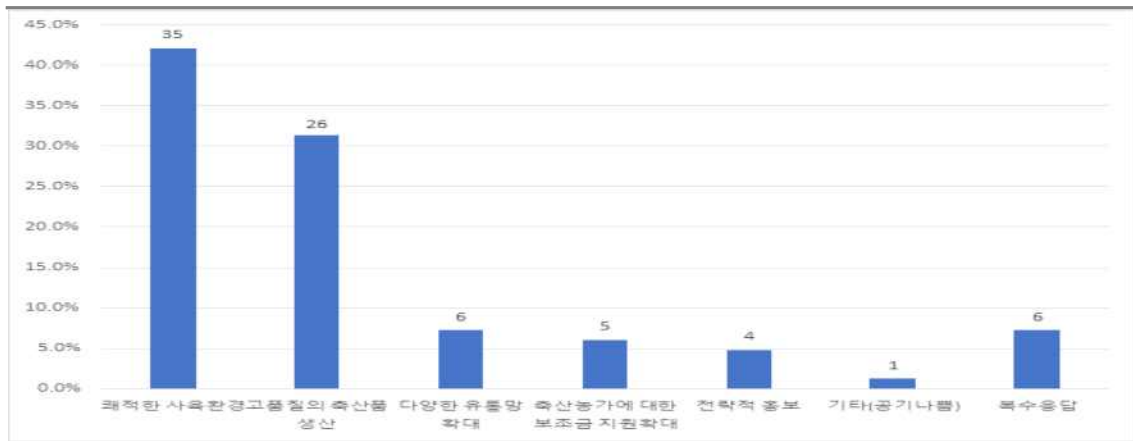
□ 축산업 발전을 위해 중요한 항목

○ 지역주민들은 축산업 발전을 위해 가장 중요한 것으로써 83명 응답자 가운데 '쾌적한 사육환경'이라는 응답이 35명(42.2%)이었고, 고품질의 축산물 생산이 26명(31.3%), 그리고 소수의 의견으로 다양한 유통망 확대(6명, 7.2%), 축산농가에 대한 보조금 지원 확대(5명, 6.0%), 전략적 홍보(4명, 4.8%) 순으로 나타났음.

〈표 29〉 축산업 발전을 위한 중요 항목

(단위 : 건, %)

구분	응답자수	비율
쾌적한 사육환경	35	42.2%
고품질의 축산품 생산	26	31.3%
다양한 유통망 확대	6	7.2%
축산농가에 대한 보조금 지원확대	5	6.0%
전략적 홍보	4	4.8%
기타(공기나쁨)	1	1.2%
중요부분 쾌적한 사육환경 & 고품질의 축산품생산	1	1.2%
쾌적한 사육환경 & 전략적 홍보	2	2.4%
고품질의 축산품생산 & 전략적 홍보	2	2.4%
쾌적한사육환경&고품질의축산품생산&다양한 유통망확대	1	1.2%
응답소계	83	100
무응답	1	-



(2) 축산 약취에 대한 주민 의식 조사

- 지역주민의 축산 약취에 대한 의식을 묻는 질문의 조사항목으로는 축산분뇨의 지역환경 영향도 (심각한 영향), 약취 경험여부(심각성, 농가의 영향, 시간대, 개월정도, 계절, 민원제기 여부), 약취 발생원인, 처리개선 필요성, 개선방법으로 미생물을 활용한 방법에 대한 인식도, 사업 진행의 의향도, 사업 기여도 및 약취 저감을 위한 주체, 지역영향, 성공을 위한 요인 등으로 구성하였음.

□ 축산분뇨가 지역환경(악취, 오염 등)에 미치는 영향

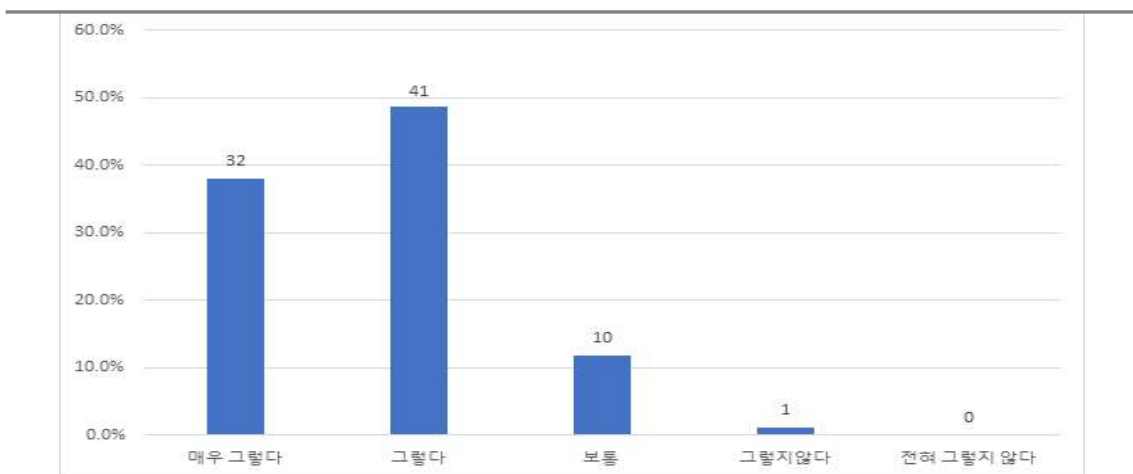
○ 축산분뇨가 지역 환경(악취, 오염)에 영향을 미치는 정도에 대해 응답자 84명의 평균점수는 1.8점으로 '그렇다' 이상의 응답을 보였으며, 분포별로는 '그렇다'가 41명으로 48.8%를 차지하였으며, '매우 그렇다'는 32명 38.1%를 차지하고 있어 축산분뇨가 지역환경에 미치는 영향정도는 매우 강한 것으로 평가하고 있음.

<표 30> 축산분뇨의 지역환경(악취, 오염 등) 영향 정도

(단위 : 점, 건, %)

구분		응답자수	비율
평균점수		1.8	
영향정도	매우 그렇다	32	38.1%
	그렇다	41	48.8%
	보통	10	11.9%
	그렇지 않다	1	1.2%
	전혀 그렇지 않다	0	0.0%
	응답소계	84	100

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 영향도는 높음



□ 축산 분뇨가 미치는 가장 심각한 영향

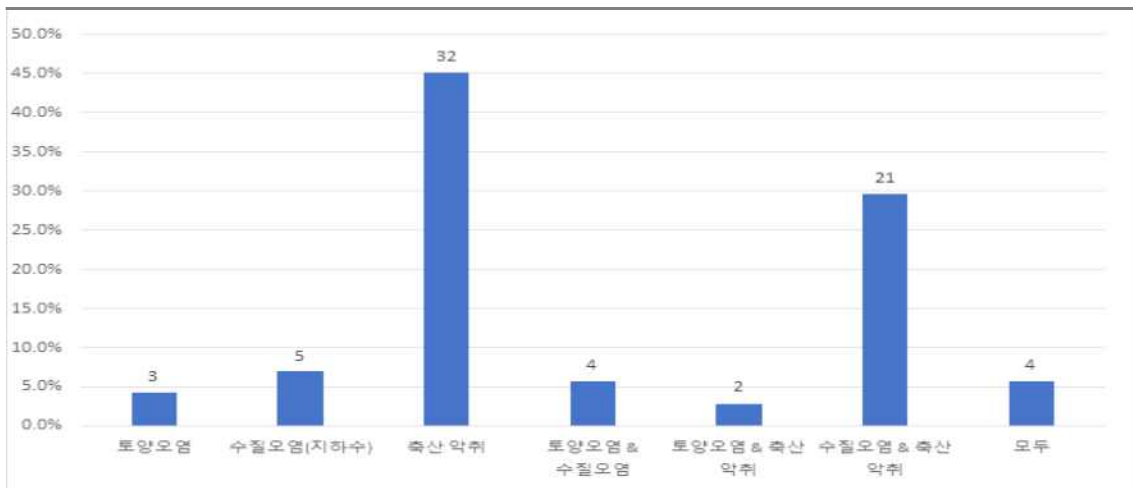
○ 축산분뇨가 지역 환경에 영향을 미친다는 응답자(73명) 중 가장 심각한 영향으로 응답한 71명 중 32명(45.1%)은 축산악취라고 응답하였으며, 수질오염 & 축산악취는 21명(29.6%)가 대부분

차지하였으며, 소수의 의견으로는 토양오염&수질오염과 모두라고 응답한 응답자도 각각 4명인 것으로 나타났음.

〈표 31〉 축산분뇨가 미치는 심각한 영향

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
심각한 영향	토양오염	3	4.2%
	수질오염(지하수)	5	7.0%
	축산 악취	32	45.1%
	토양오염 & 수질오염	4	5.6%
	토양오염 & 축산 악취	2	2.8%
	수질오염 & 축산 악취	21	29.6%
	모두	4	5.6%
	응답소계	71	100
	무응답	2	-



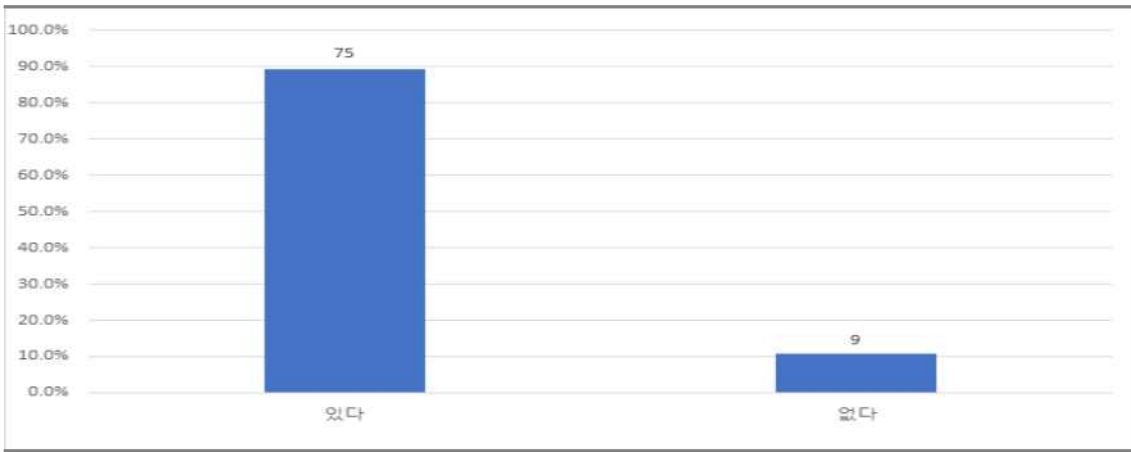
□ 거주지역에서의 축산분뇨 악취 경험 여부

○ 거주 지역에서 축산분뇨에 따른 악취를 경험여부에 대해 응답자의 89.3%인 75명은 경험했다고 응답했고, 경험하지 못했다는 응답은 9명인 것으로 나타남.

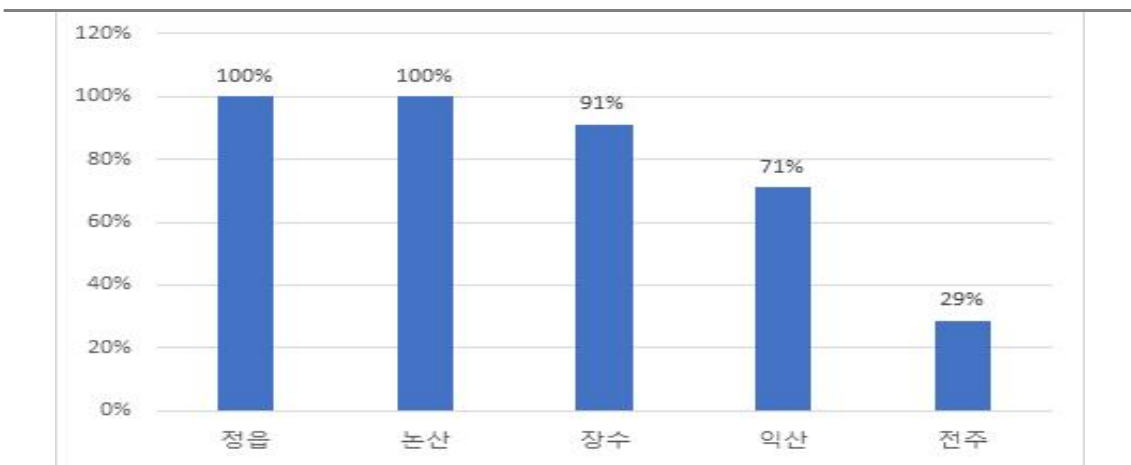
〈표 32〉 거주지에서의 축산분뇨 악취 경험여부

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
축산 악취 경험	있다	75	89.3
	없다	9	10.7
	응답소계	84	100



○ (지역별 축산악취 경험) 축산악취를 경험한 적이 있다고 응답한 비율을 지역별로 보면, 정읍, 논산지역은 응답자 모두 경험했다고 응답했고, 장수지역도 91%, 익산지역은 71%가 악취를 경험한 적이 있다고 응답한 것으로 나타남.



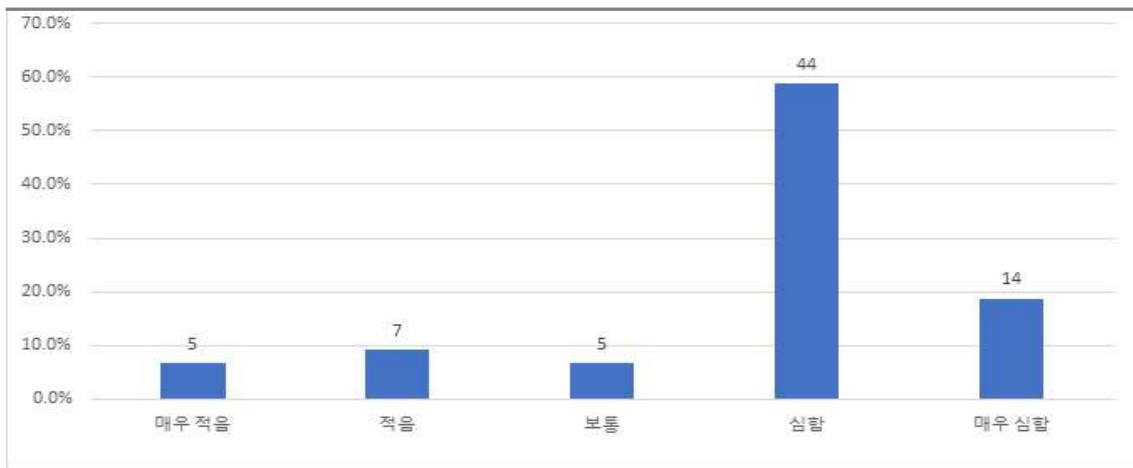
□ 축산 악취의 강도

○ 축산 악취를 경험한 응답자들의 평균은 3.73점으로 심하다고 인식하였으며, 분포별로 살펴보면 심함이 44명으로 58.7%를 차지하고 있고, 매우 심하다는 응답도 14명의 18.7%에 해당하는 것으로 나타남. 따라서 전체 응답자의 약 80%에 해당하는 사람들은 축산악취로 고통을 받는 것으로 볼 수 있음.

<표 33> 축산 악취 강도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균점수		3.73	
악취 강도	매우 적음	5	6.7%
	적음	7	9.3%
	보통	5	6.7%
	심함	44	58.7%
	매우심함	14	18.7%
	응답소계	75	100
	무응답	9	-



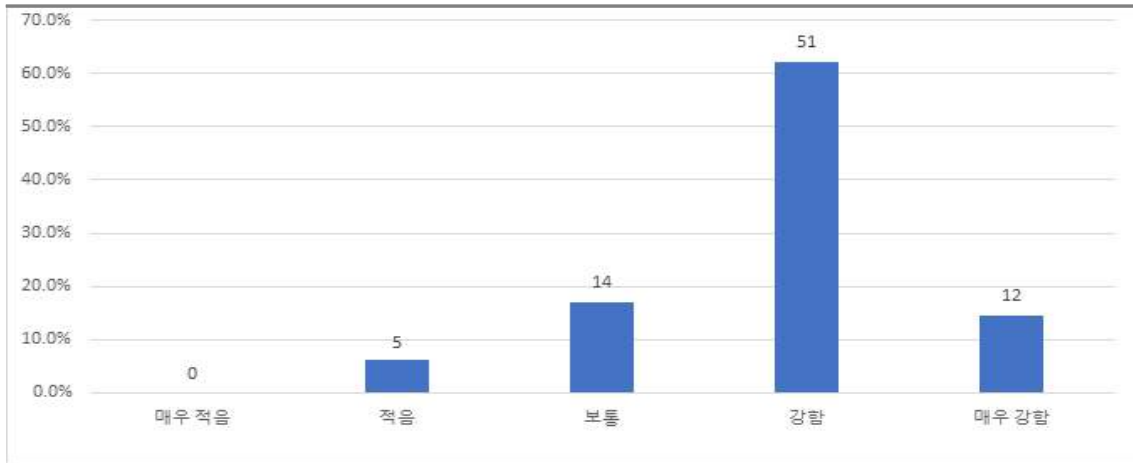
□ 악취발생의 축산 농가의 영향 정도

○ 악취 발생의 농가의 영향도에 대해 응답자들의 평균 점수는 3.9점으로 '강하다'고 인식하고 있으며, 분포별로는 '강함'이라고 응답한 비율(62.2%)이 가장 높고, 보통(14명)은 17%, 보통 이하의 응답이라고 답한 사람(5명, 6.1%)은 적은 것으로 나타남. 따라서 축산 악취에 대한 농가의 영향이 상당히 큰 것으로 평가하고 있음.

〈표 34〉 축산 농가 영향 정도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균 점수		3.9	
악취의 축산농가 영향	매우 적음	0	0.0%
	적음	5	6.1%
	보통	14	17.1%
	강함	51	62.2%
	매우 강함	12	14.6%
	응답소계	82	100
	무응답	2	-



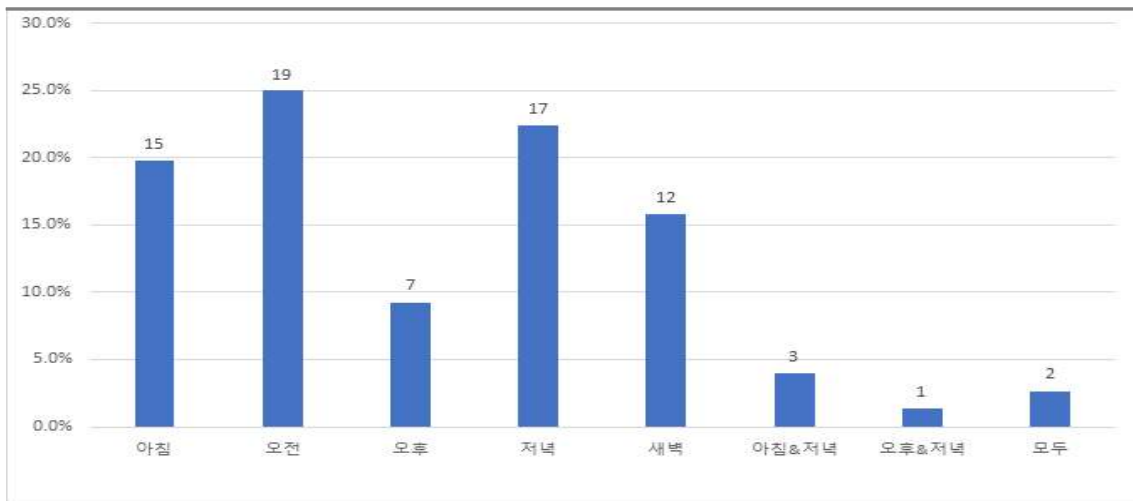
□ 악취 경험 시간대

○ 주민들이 축산 악취를 경험한 시간대는 거의 고르게 분포되어 있다고 볼 수 있으며, 오전 (9시~12시) 25%, 저녁(18시~24) 22.4%, 아침(6시~9시) 19.7%, 새벽(24시~6시) 15.8% 등 시간대별 편차는 크지 않은 것으로 나타나고 있음. 또한 아침과 저녁, 모두라고 응답한 사람도 각각 3명, 2명이었음.

〈표 35〉 약취 경험 시간대

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
애로 사항	아침(6시~9시)	15	19.7%
	오전(9시~12시)	19	25.0%
	오후(12시~16시)	7	9.2%
	저녁(18시~24시)	17	22.4%
	새벽(24시~6시)	12	15.8%
	복수응답	6	7.8
	- 아침(6시~9시) & 저녁(18시~24시)	(3)	3.9%
	- 오후(12시~18시) & 새벽(24시~6시)	(1)	1.3%
	- 모두	(2)	2.6%
	응답 소계	82	100
	무응답	2	-



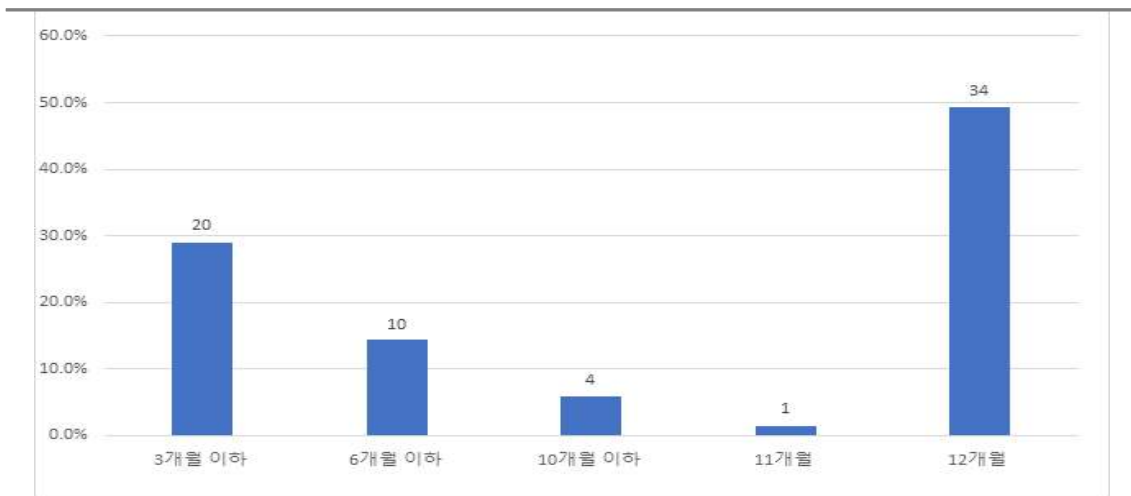
□ 1년 중 약취 경험 개월

○ 1년 중 약취를 경험한 개월 수에 대해 응답자 69명의 평균은 7.8개월이며, 일년내내(12개월) 약취를 경험했다는 응답이 34건으로 전체 49.3%를 차지하고 있음. 3개월 이하는 20건으로 29%를 차지하고 있으며 4~6개월 이하는 10건(14.5%)이었음. 응답자의 약취 경험 비율이 절반 가까이 차지하고 있는 점을 볼 때 주민들의 축산 약취에 대한 고통은 지속적으로 작용하고 있는 것으로 보임.

<표 36> 1년 중 악취 경험 개월

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균		7.8	
개월	3개월 이하	20	29.0%
	6개월 이하	10	14.5%
	10개월 이하	4	5.8%
	11개월	1	1.4%
	12개월	34	49.3%
	응답소계	69	100
	무응답	15	-



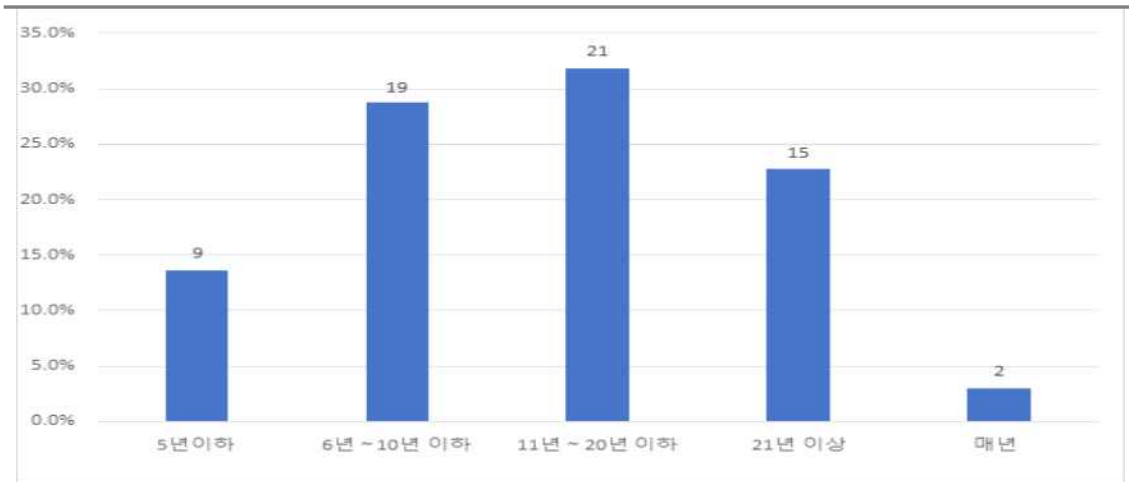
□ 악취 피해 기간(년)

- 응답자 66명의 축산 악취 피해기간은 평균 18.3년이었으며, 최대 피해기간은 50년이었음. 기간별 분포를 살펴보면, 응답11년 ~ 20년 사이가 21명으로 31.8%를 차지하고 있으며, 6년 ~ 10년 이하는 19명(28.8%), 21년 이상이라는 응답자도 15명(22.7%)인 것으로 나타나고 있음.

<표 37> 악취 피해 기간

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균		18.3년	
최소 / 최대		0년 / 50년	
피해기간	5년이하	9	13.6%
	6년 ~ 10년이하	19	28.8%
	11년 ~ 20년이하	21	31.8%
	21년 이상	15	22.7%
	매년	2	3.0%
	응답소계	66	100
	무응답	18	-



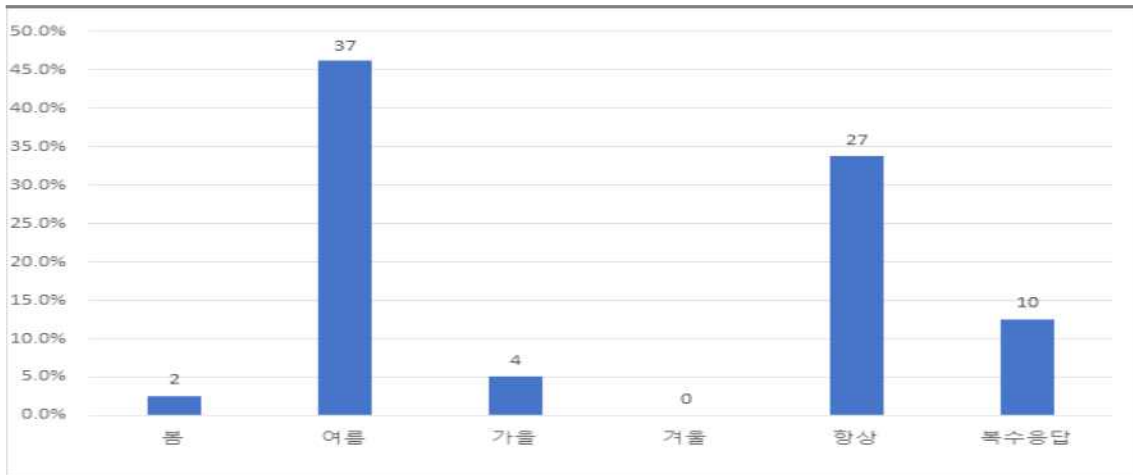
□ 축산 악취 경험 계절(복수응답)

○ 80명의 응답자 중 계절에 따른 축산 악취는 '여름'이 37명(46.3%)으로 가장 많았고, '4계절 내내 항상'이라는 응답도 27명으로 33.8%에 해당하는 것으로 나타남. 상대적으로 겨울이라고 응답한 사람은 없었으며, 봄이라는 응답은 2명인 것으로 나타남.

<표 38> 악취 경험 계절(복수)

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
악취 경험 계절	봄	2	2.5%
	여름	37	46.3%
	가을	4	5.0%
	겨울	0	0.0%
	항상	27	33.8%
	복수 응답	10	12.6%
	- 봄 & 여름	(2)	(2.5%)
	- 여름 & 가을	(3)	(3.8%)
	- 봄 & 여름 & 가을	(5)	(6.3%)
	응답소계	80	100
	무응답	4	-



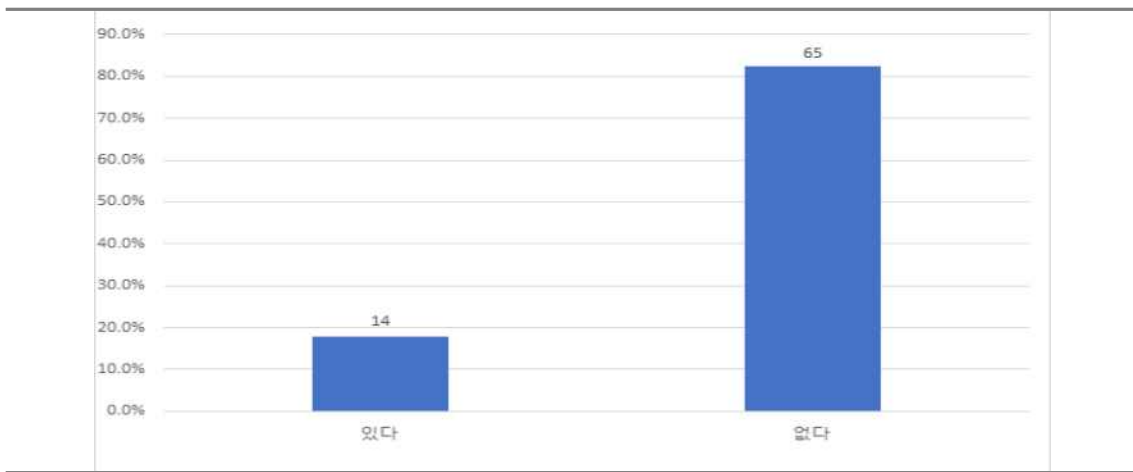
□ 축산 악취로 인한 행정기관 해소 민원(신고) 요청 여부

○ 주민들의 대부분은 축산 악취를 경험한 적이 있지만 축산 악취로 인한 행정기관에의 민원제기를 한 적이 '있다'는 응답은 14명(17.7%)은 '없다'는 응답 65명(82.3%)에 비해 매우 적은 것으로 나타남.

〈표 39〉 축산악취 민원 요청 여부

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
민원요청 여부	있다	14	17.7%
	없다	65	82.3%
	응답소계	79	100.0
	무응답	5	-



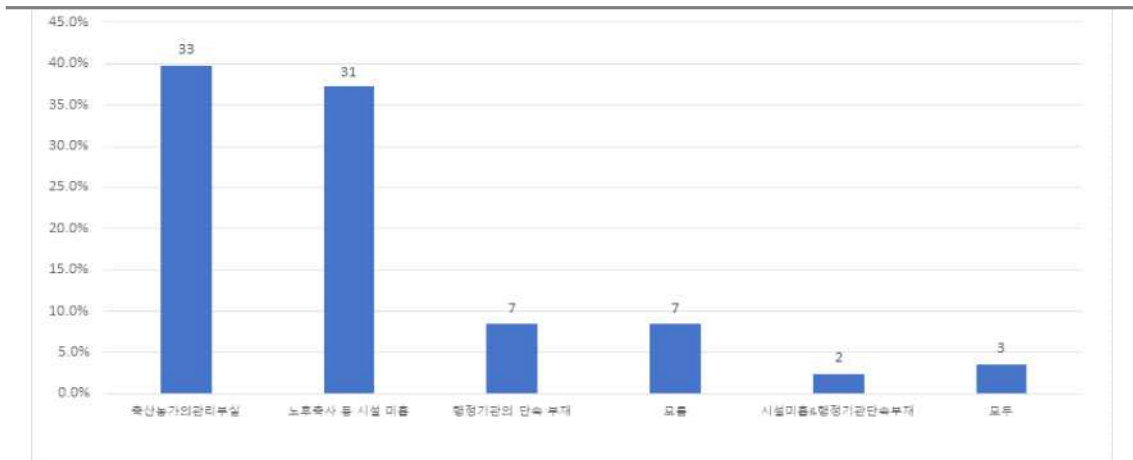
□ 축산 악취 발생 원인

- 주민들은 축산 악취가 발생하는 원인에 대해 83명 응답자 가운데 33명(39.8%)이 축산농가의 관리 부실, 31명(37.3%)은 노후 축사 등 시설 미흡이라고 응답하였는데 이는 축산 농가의 영향이 있는 것으로 평가할 수 있음. 또한 '행정기관의 단속 부재'라는 응답과 '모른다'는 응답도 각각 7명인 것으로 나타남. 악취 원인을 2개 이상이라는 복수응답은 5건으로 '노후 축사 & 행정기관의 단속 부재'는 2건, 세가지 원인 모두라는 의견도 3건이었음.

<표 40> 축산 약취 발생 원인

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
애로 사항	축산 농가의 관리 부실	33	39.8%
	노후 축사 등 시설 미흡	31	37.3%
	행정기관의 단속 부재	7	8.4%
	모름	7	8.4%
	복수응답	5	6.0%
	- 노후 축사 등 시설 미흡 & 행정기관 단속 부재	(2)	(2.4%)
	- 축산농가의 관리부실 & 시설 미흡 & 단속 부재	(3)	(3.6%)
	응답 소계	83	100
	무응답	1	-



□ 축산 약취 처리 개선에 대한 필요성 정도

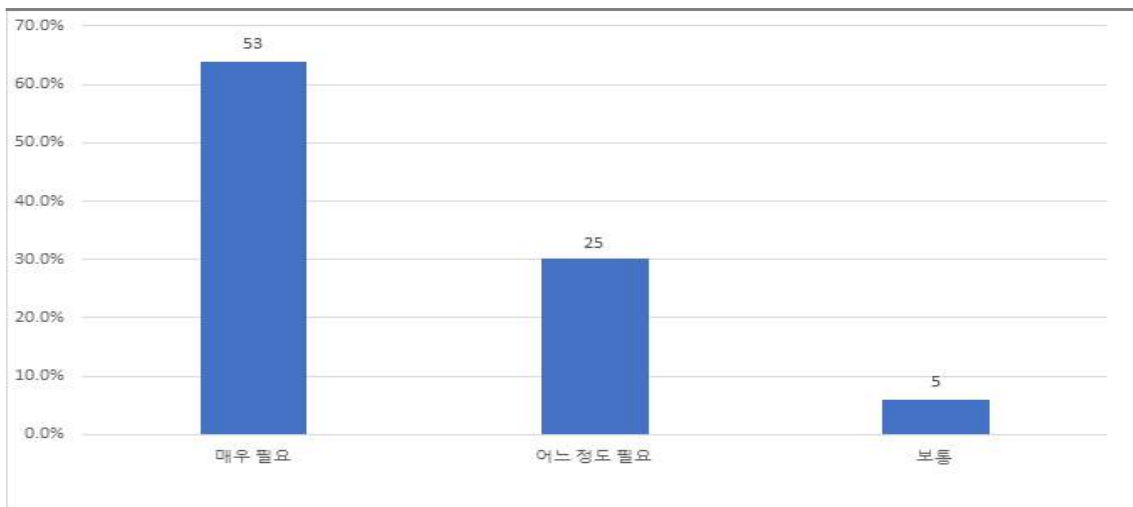
○ 주민들은 축산 약취 처리에 대한 개선이 '매우 필요'(평균점수 1.42)한 것으로 인식하고 있으며 응답자 83명중 78명이 필요하다 이상의 응답을 보이고 있는데, 특히 '매우 필요하다'는 응답은 53명으로 전체 64%정도를 차지하고 있음. '필요하지 않다'는 응답을 보인 응답자는 없는 것으로 나타남.

<표 41> 축산 악취 처리 개선 필요성 정도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균 점수		1.42	
악취처리 필요성	매우 필요	53	63.9%
	어느정도 필요	25	30.1%
	보통	5	6.0%
	필요하지 않음	0	0.0%
	전혀 필요하지 않음	0	0.0%
	응답소계	83	100
	무응답	1	-

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 필요성은 높음



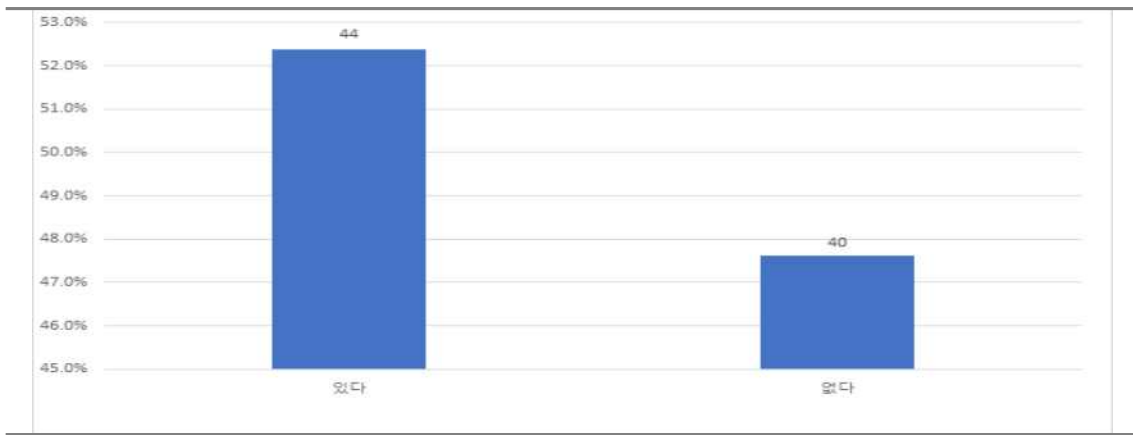
□ 축산 악취 해소를 위해 미생물 이용하는 개선방법에 대한 인식 여부

○ 미생물을 이용하여 축산 악취 해소를 위해 방법에 대해 들어본 적이 있느냐는 질문에 '있다' (44명, 52.4%)라는 응답과 '없다' (40명, 47.6%)라는 응답이 거의 비슷한 것으로 나타났다.

<표 42> 미생물 활용 축산악취 개선 인식 여부

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
인식 여부	있다	44	52.4%
	없다	40	47.6%
	응답소계	84	100.0



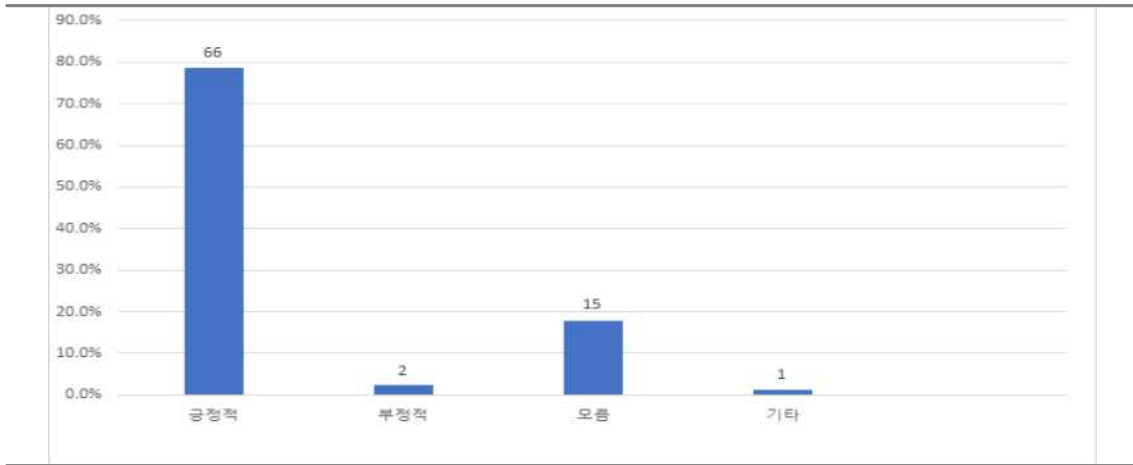
□ 축산 악취 해소를 위해 미생물 이용 축산 악취 저감사업 진행에 대한 의견

○ 그렇다면 미생물을 이용한 축산 악취 저감 사업 진행에 대해서는 '긍정적'이라는 의견 (66명, 78.6%)이 '부정적'인 의견(2명, 2.4%)보다 훨씬 높게 나타났으며, '모른다'는 응답도 15명 (17.9%)에 해당하는 것으로 나타남.

<표 43> 미생물 이용 축산악취 저감 사업 진행 의향 동의정도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
사업 추진 동의 정도	긍정적	66	78.6%
	부정적	2	2.4%
	모름	15	17.9%
	기타	1	1.2%
	응답소계	84	100



□ 축산 분뇨 악취 저감을 위한 미생물 제제 이용에 대한 기여 필요도

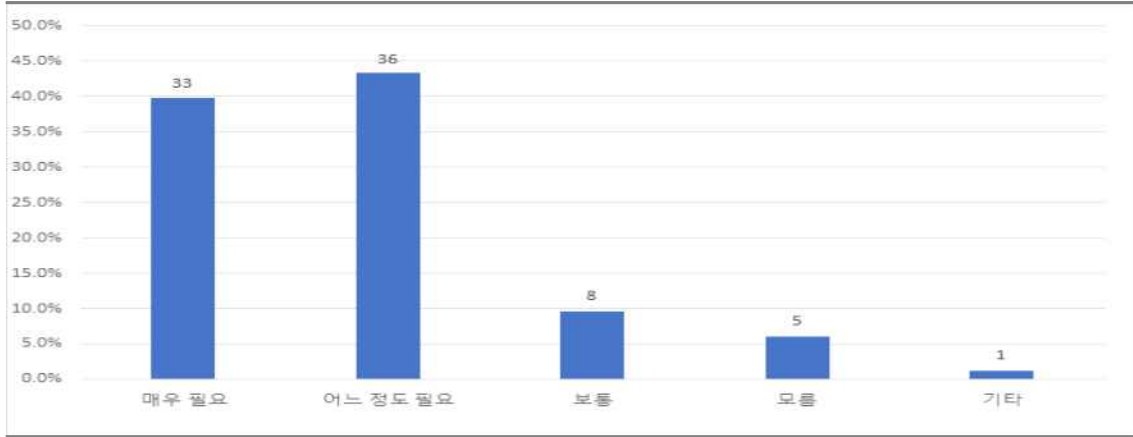
○ 축산 분뇨 악취 저감을 위한 미생물 제제 활용 방법에 대한 기여도 평가에서 평균점수는 1.6점으로 악취 저감에 기여할 것으로 평가하였으며, 분포별로 보면 '필요하다' 이상 (어느 정도 필요 + 매우 필요)의 응답자가 69명(83%)인 것으로 나타났으며, 보통이라는 응답은 8명(9.6%) 모르겠다는 응답도 5명이 응답하였음.

<표 44> 미생물제제 이용 기여 필요도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균 점수		1.6	
필요성	매우 필요	33	39.8%
	어느 정도 필요	36	43.4%
	보통	8	9.6%
	모름	5	6.0%
	기타	1	1.2%
	응답소계	83	100%
	무응답	1	-

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 필요도는 높음



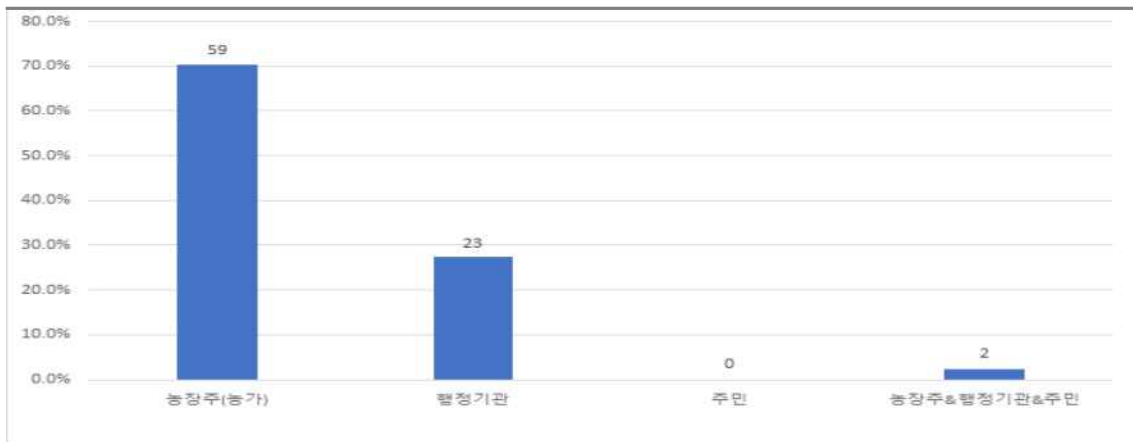
□ 축산관련 약취 저감을 위해 가장 노력해야 할 주체

○ 주민들은 축산 약취 저감을 위한 노력의 주된 주체로 농장주(농가)라는 응답이 59건으로 전체 70.2%를 차지하고 있으며, 행정기관이라는 응답은 23건(27.3%)인 것으로 나타남. 소수 의견으로는 농장주&행정기관&주민 모두라는 응답이 2건 있었음.

<표 45> 축산 약취 저감 노력의 주된 주체

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
약취 저감 주체	농장주(농가)	59	70.2%
	행정기관	23	27.4%
	주민	0	0.0%
	농장주&행정기관&주민	2	2.4%
	응답소계	84	100

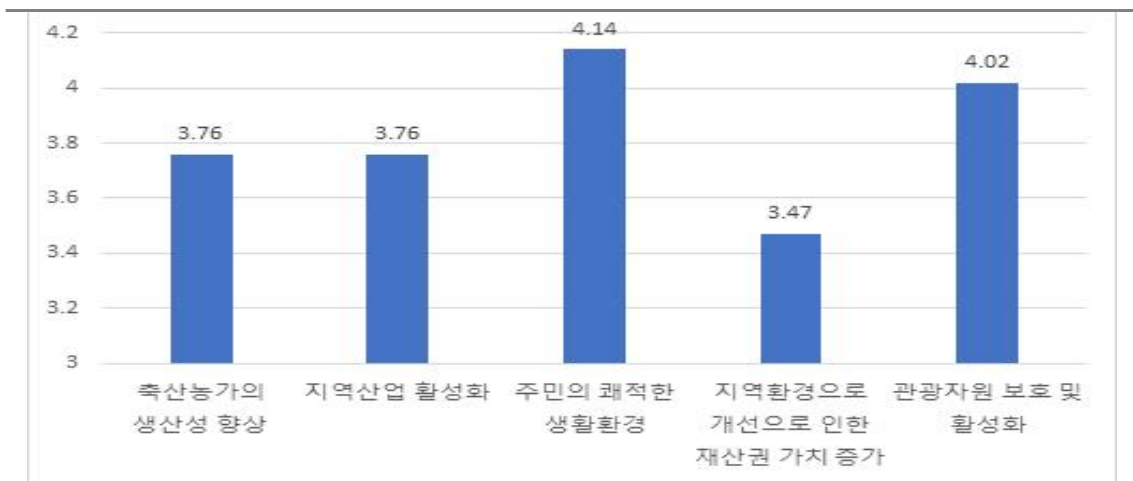


□ 축산 악취 분뇨 저감 사업의 지역에 미치는 영향 정도

- 미생물을 활용한 축산 악취 사업이 지역에 미치는 영향에 대한 인식조사에 대해 각 항목의 응답자들의 평균 점수를 비교한 결과, 응답자들은 '주민의 쾌적한 생활환경 제공(4.14)'에 가장 큰 영향을 미칠 것으로 기대하였으며, '관광자원보호 및 활성화(4.02)', 축산 농가 생산성 향상 및 지역산업 활성화(축산업 분야)(3.76) 그리고 '지역환경 개선으로 인한 재산권 가치의 증가'는 가장 기여도가 낮을 것으로 평가하였음.
- 각 문항의 평균 점수의 비교를 용이하기 위해 기존 영향 강도를 오름차순으로 변환 처리하였음.

<표 46> 축산분뇨 저감사업이 지역에 미치는 기여도

구분		(기존)평균점수	변환 평균점수
지역 영향도	축산농가의 생산성 향상	2.24	3.76
	지역 산업 활성화(축산업 분야)	2.24	3.76
	주민의 쾌적한 생활환경 제공	1.86	4.14
	지역환경 개선으로 인한 재산권 가치 증가	2.53	3.47
	관광자원 보호 및 활성화	1.98	4.02



① 축산농가의 생산성 향상

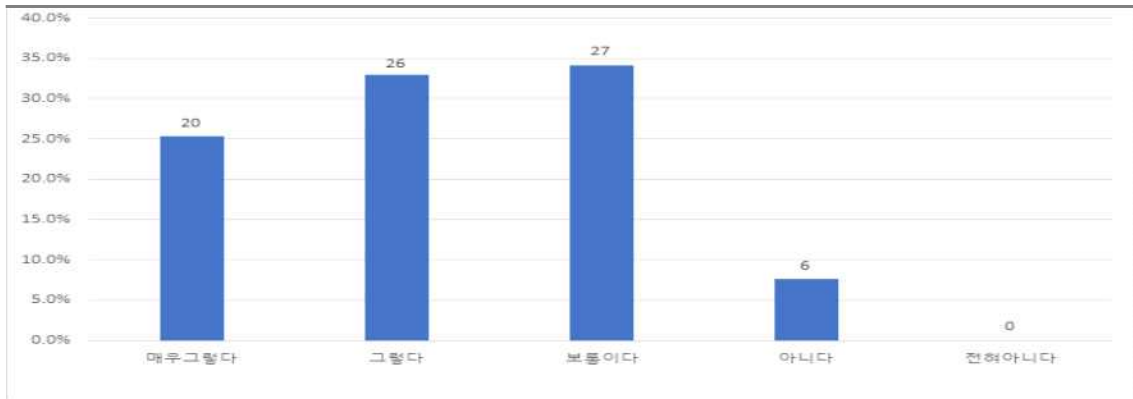
- 축산분뇨 저감사업이 축산농가의 생산성 향상에 기여하느냐에 대한 질문에 응답자들의 평균 점수는 2.24점으로 '그렇다'에 가까운 것으로 평가하였으며, 그렇다 이상의 응답은 46명으로 전체 56.2%를 차지하고 있음. '아니다'라는 응답은 7명(7.6%)인 것으로 나타남.

<표 47> 축산 농가 생산성 향상에 대한 기여도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균 점수		2.24	
농가 생산성 향상	매우 그렇다	20	25.3%
	그렇다	26	32.9%
	보통이다	27	34.2%
	아니다	6	7.6%
	전혀 아니다	0	0.0%
	응답소계	79	100
	무응답	5	-

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 기여도는 높음



② 지역산업 활성화(축산업 분야)

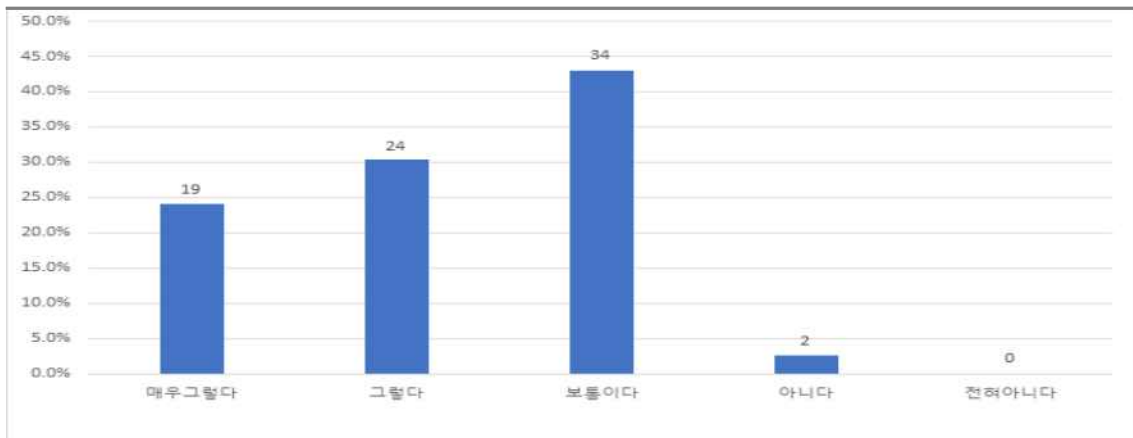
○ 축산분야 저감사업이 지역산업 활성화(축산업 분야)에 기여하느냐에 대한 질문에 응답자들의 평균 점수는 2.24점으로 '그렇다'에 가까운 것으로 평가하였으며, '그렇다' 이상(그렇다 + 매우 그렇다)의 응답은 43명으로 전체 54.5%를 차지하고 있음. '아니다'라는 응답은 2명(2.5%)인 것으로 나타남.

〈표 48〉 축산업 분야 지역경제 활성화 기여도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균 점수		2.24	
지역경제 활성화 (축산업)	매우 그렇다	19	24.1%
	그렇다	24	30.4%
	보통이다	34	43.0%
	아니다	2	2.5%
	전혀 아니다	0	0.0%
	응답소계	80	100
	무응답	4	-

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 기여도는 높음



③ 주민의 쾌적한 생활환경 제공

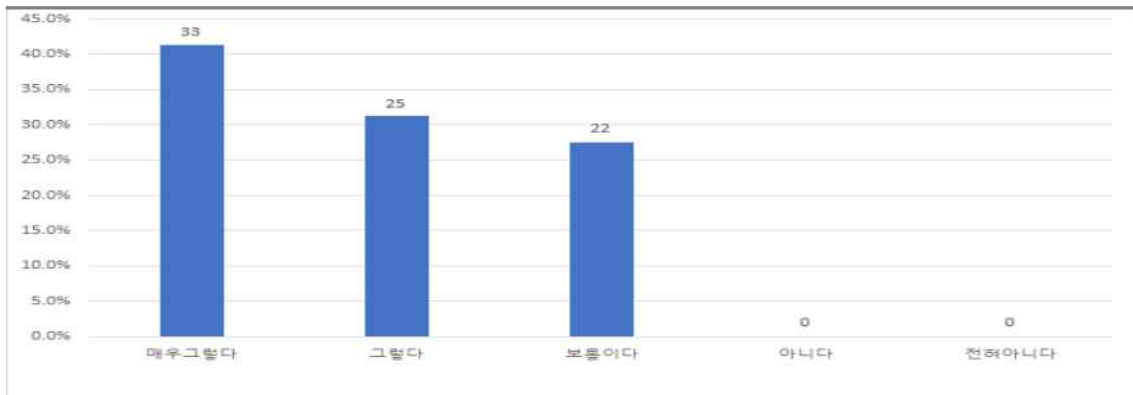
○ 축산분뇨 저감사업이 '주민의 쾌적한 생활환경 제공'에 기여하느냐에 대한 질문에 응답자들의 평균 점수는 1.86점으로 '그렇다' 이상인 것으로 평가하였으며, '그렇다' 이상(그렇다 + 매우 그렇다)의 응답은 58명으로 전체 72.6%를 차지하고 있음. '아니다'이하의 응답은 전혀 나타나지 않았음.

〈표 49〉 쾌적한 주민생활 환경 기여도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균 점수		1.86	
쾌적한 주민생활 환경	매우 그렇다	33	41.3%
	그렇다	25	31.3%
	보통이다	22	27.5%
	아니다	0	0.0%
	전혀 아니다	0	0.0%
	응답소계	80	100
	무응답	4	-

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 기여도는 높음



④ 지역환경 개선으로 인한 재산권 가치의 증가

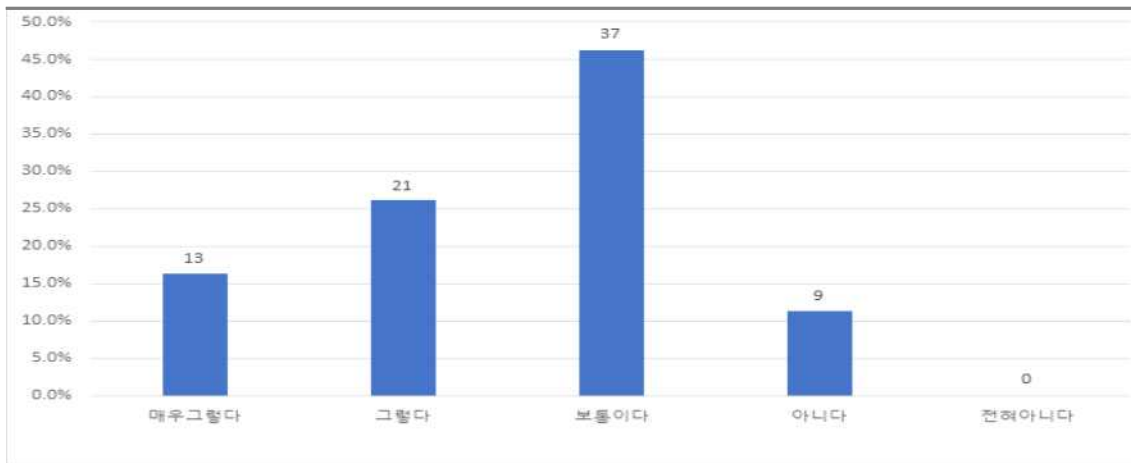
- 축산분뇨 저감사업이 '지역환경 개선으로 인한 재산권 가치의 증가'에 기여하느냐에 대한 질문에 응답자들의 평균 점수는 2.53점으로 '그렇다'와 '보통' 사이로 평가하였으며, '그렇다' 이상(그렇다 + 매우 그렇다)의 응답은 33명으로 전체 42.6%를 차지하고 있음. '아니다'라는 응답은 9명(11.3%)으로 나타남.

〈표 50〉 재산권 가치 증가 기여도

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균 점수		2.53	
재산권 가치 증가	매우 그렇다	13	16.3%
	그렇다	21	26.3%
	보통이다	37	46.3%
	아니다	9	11.3%
	전혀 아니다	0	0.0%
	응답소계	80	100
	무응답	4	-

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 기여도는 높음



⑤ 관광자원의 보호 및 활성화(환경오염, 악취개선 등)

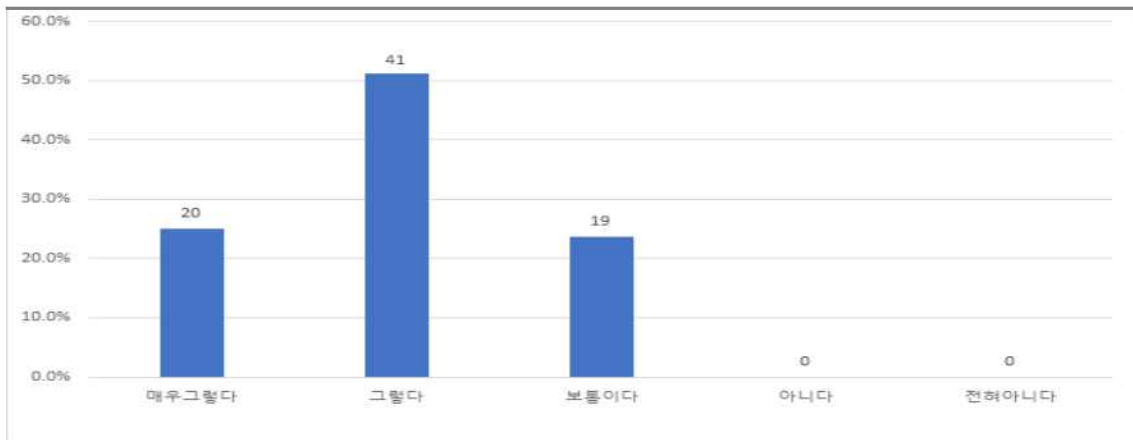
- 축산분뇨 저감사업이 '관광자원의 보호 및 활성화'에 기여하느냐에 대한 질문에 응답자들의 평균 점수는 1.98점으로 '그렇다' 이상으로 평가하였으며, '그렇다' 이상(그렇다 + 매우 그렇다)의 응답은 61명으로 전체 76.3%를 차지하고 있음. '아니다'이하의 응답은 전혀 나타나지 않았음.

<표 51> 관광자원의 보호 및 활성화

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
평균 점수		1.98	
관광자원 보호 및 활성화	매우 그렇다	20	25.0%
	그렇다	41	51.3%
	보통이다	19	23.8%
	아니다	0	0.0%
	전혀 아니다	0	0.0%
	응답소계	80	100
	무응답	4	-

* 주 : 평균 점수가 낮을수록 기여도는 높음



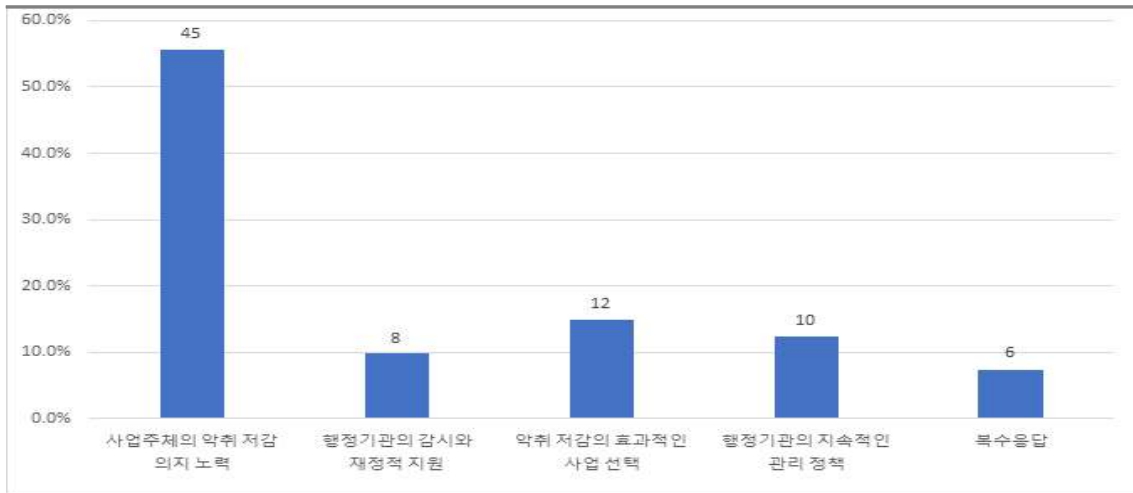
□ 축산 분뇨 악취 저감 사업이 성공하기 위해 가장 필요한 것

○ 마지막 질문으로 주민들은 축산분뇨로 인한 악취 저감 사업이 성공하기 위해서 '사업주체의 악취 저감 의지와 노력'이 가장 필요한 것으로 응답하였음. 응답자 81명중 45명이 해당 분야에 응답하였으며 응답률은 55.6%에 해당함. 또한 '악취 저감의 효과적인 사업 선택'(12명, 14.8%), '행정기관의 지속적인 관리정책'(10명, 12.3%)을 그다음 순으로 응답하였음. 이밖에도 복수 응답은 6건이었으며 '사업주체의 악취 저감 의지와 노력 & 행정기관의 감시와 재정적 지원' 2건, 제시된 모든 내용이 포함된다는 의견도 3건이 있었음.

<표 52> 축산악취 저감 사업 성공을 위해 가장 필요한 것

(단위 : 건, %)

구분		응답자수	비율
필요한 것	사업주체의 악취 저감 의지 노력	45	55.6%
	행정기관의 감시와 재정적 지원	8	9.9%
	악취 저감의 효과적인 사업 선택	12	14.8%
	행정기관의 지속적인 관리 정책	10	12.3%
	복수응답	6	7.4%
	- 사업주체의 악취 저감 의지와 노력 & 행정기관의 감시와 재정적 지원	(2)	(2.5%)
	- 사업주체의 악취 저감 의지와 노력 & 행정기관의 지속적인 관리정책	(1)	(1.2%)
	- 모두	(3)	(3.7%)
	응답 소계	81	100
	무응답	3	-



제3절 결론 및 제언

1. 분석의 주요 결과

□ 참여농가 결과

- 미생물제제를 사용하는 축산농가 대상 설문조사 결과, 참여농가는 농장 악취의 원인으로 현재 분뇨처리시설의 한계를 가장 많이 응답하였음
- 악취저감을 위해 가장 많이 사용하는 방법으로 미생물제를 사용하고 있으며, 미생물제 중에서는 주로 사료첨가제를 사용하고 있지만 복수의 미생물제를 같이 사용하기도 함.
- 축산 악취 저감 효과가 '매우 높다'라고 평가한 방식은 복수방식(미생물제&액비재순환제 사용, 액비 재순환제 사용&분뇨처리기간 단축)이었으며, 미생물제의 효과는 보통과 높음의 중간 정도라고 평가함.
- 축산 악취를 줄이기 위한 비용으로는 100만원 미만 지출이 가장 많았는데, 이는 농가의 악취 저감을 위한 투자에 인색하다고 할 수 있음
- 미생물제제의 효과는 대체적으로 긍정적이었으며, 미생물제제 사용 후 기대효과는 '돼지 생육 환경개선'과 '청정한 사육환경'에 가장 높게 응답하였으며, '악취처리 비용 절감'이라고 응답한 응답자는 2명에 불과하였음.
- 미생물제제 사용 및 이에 대한 국가적 지원사업의 필요성에 대한 의견이 95%를 차지할 만큼 사업에 대한 수요는 매우 높은 것으로 나타나고 있음

□ 일반주민 결과

- 본 사업의 궁극적인 수혜자라고 할 수 있는 지역주민을 대상으로 설문을 실시하였고, 응답자들의 84명의 거주지역은 정읍, 논산, 장수, 익산, 전주 순이었음. 응답자들은 지역 내 축산업 규모는 어느 정도 알고 있다고는 하지만 축산업 비중에 대해서는 보통이라고 평가하였으며, 논산지역 주민들이 타지역에 비해 비중이 높은 편이라고 응답함.

- 응답자들은 지역경제 활성화에 기여하는 산업으로 일반농업을 가장 많이 선택했으며, 축산업의 지역경제 기여도는 보통이라고 평가하였음. 축산업 발전을 위해서는 쾌적한 사육환경과 고품질의 축산품 생산이 중요하다고 응답하였음.
- 축산분뇨 악취에 대해서는 축산분뇨가 지역환경에 많은 영향을 미치고 있다고 판단하였고, 특히 축산분뇨는 축산 악취의 가장 큰 영향을 미치는 것으로 평가하였음. 응답한 주민들 90%이상이 축산 악취를 경험하였으며 악취의 강도는 심한 것으로 응답하였음.
- 악취 경험에 따른 농가의 영향은 높다고 평가하였으며, 시간대 및 연중 악취를 느끼는 기간은 대부분인 것으로 나타나 주민들의 축산 악취에 대한 고충은 큰 것으로 판단할 수 있음. 상대적으로 민원 제기는 적었지만 악취 발생의 원인으로 노후 시설 등 시설 미흡, 축산농가 관리 부실을 가장 많이 지적하였음.
- 축산 악취 처리 개선은 필요하다고 응답하였으며, 미생물을 활용한 축산 악취 개선방법에 대해 들어본 적이 있다와 없다는 응답 비중은 비슷하게 나타났으며, 미생물을 이용한 저감 사업 진행에 대해서는 긍정적인 의견이 압도적이었음.
- 미생물 제제 활용 사업이 축산 악취 해소에 기여하기 위해서는 사업이 매우 필요하다고 응답하였으며, 축산 악취 저감의 주체는 농가(농장주)의 역할을 강조하고 있음.
- 일반 주민들은 축산 분뇨 저감 사업이 지역에 미치는 효과로 '주민의 쾌적한 생활환경 제공'이 가장 클 것으로 평가하였고, '관광자원의 보호 및 활성화'가 그 다음 순이었음.
- 축산분뇨로 인한 악취 저감 사업이 성공하기 위해서는 사업주체의 악취 저감 의지와 노력이 가장 중요하며, 악취 저감의 효과적인 사업이 선택되는 것, 행정기관의 지속적인 관리 정책 및 행정기관의 감시와 재정적 지원도 필요하다고 평가하였음.

2. 시사점 및 제언

□ 미생물제제 지원 사업의 내실화 필요

- 미생물제제 사용으로 농가의 생산성 향상과 쾌적한 농가 환경 조성은 물론 주민들의 쾌적한 생활환경 조성을 위해서는 사업의 지속성과 사업추진에 보다 내실화를 기해야 함
- 또한 궁극적인 사업의 성과를 달성하기 위해서는 사업 전반의 내실화를 기하는 것이 중요
 - 지역과 해당 농가의 특성에 맞는 투입량 조절 및 미생물제 혼합 사용과 같은 세부 매뉴얼 마련
 - 사업 성과를 높이기 위해서는 미생물제제 사용 뿐 아니라 노후 시설 개선 등의 타 사업들과의 연계 필요
- 단순 지원 사업이 아닌 관리, 감독 매뉴얼과 함께 하고 선택과 집중을 통해 농가의 실효성 있는 지원으로 전환 필요

□ 축산 악취 저감을 효과를 거양할 수 있는 미생물제제 선택 및 사업의 지속성 확보

- 주민들은 축산악취 저감사업이 성공하기 위한 요건으로 악취 저감의 효과적인 사업을 선택하고 지속적인 관리정책을 당부
- 참여농가는 미생물제제 중복사업을 허용하고, 사업효과가 지속적일 수 있도록 지원책 마련이 필요함을 당부함
- 축산 악취는 한 순간에 제거되는 문제가 아니기 때문에 사업의 효과성을 담보로한 사업의 지속성을 유지하여 추진하는 것이 무엇보다도 중요함.

<부록 : 설문지>

No.	
-----	--

전라북도 미생물 제제 활용 효과 인식 설문지 <참여농가용>

응답자		연락처	
주소	()시/군 ()읍/면		

A	농가 기초 조사
----------	-----------------

1. 농가 기본 현황

소재지	
양돈경력	대표자 ()년
	현 소재지 ()년
농장경영형태	① 단독 ② 계열 ③ 단지 ④ 기타 ()
사육형태	① 일관 ② 비육 ③ 번식 ④ 기타 ()
사육규모	① 500두 미만 ② 1,000두 미만 ③ 2,000두 미만 ④ 3,000두 미만 ⑤ 3,000두 이상
농장규모	① 100㎡ 미만 ② 500㎡ 미만 ③ 1,000㎡ 미만 ④ 3,000㎡ 미만 ⑤ 5,000㎡ 미만 ⑥ 5,000㎡ 이상 ※ 농장규모는 돈사 포함으로 규모가 더 클수도 있을 것임
(연간) 매출규모	① 1,000만원 미만 ② 2,000만원미만 ③ 3,000만원 미만 ④ 5,000만원 미만 ⑤ 1억원 미만 ⑥ 1억원 이상

2. 분뇨 처리 현황 (해당분야 √)

6.3 (6번 ①항목 응답) 사용한 미생물제의 효과는 어느 정도입니까??

- ① 매우 높음 ② 높음 ③ 보통 ④ 낮음 ⑤ 매우 낮음

7. 귀하는 악취를 줄이기 위해 연간 얼마정도를 지출하고 계십니까?

(만원 / 매출액의 %)

8. 귀하는 농장에서 발생하는 악취로 인하여 민원제기를 받은 적이 있습니까?

- ① 있다 ② 없다

9. 악취 민원이 있었다면 주로 어느 계절이었습니까?

- ① 봄 ② 여름 ③ 가을 ④ 겨울 ⑤ 항상

10. 농장 악취 발생으로 인해 비용(벌금, 배상액)을 지불한 적이 있었다면 얼마 정도였습니까?

_____회/ _____ 만원

C 미생물제제 사용 현황 및 지원사업 필요성

11. 귀하의 농장은 미생물 제제를 사용하고 계십니까?

- ① 그렇다 ② 아니다

11.1 어떤 종류의 미생물 제제를 사용하고 계십니까? (복수응답)

- ① 사료첨가제 ② 음수첨가제 ③ 분뇨처리제 ④ 환경개선제 ⑤ 기타 ()

11.2 (11.1번 ① 응답) 급여량은 얼마 정도입니까?

사료내 비율 (%) _____

11.3 (11.1번 ② 또는 ③ 응답) 투입횟수와 투입량은 얼마 정도입니까?

_____ 회 _____L(리터)

11.4 현재 귀하는 미생물제제 사용에 대한 효과가 있다고 생각하십니까?

- ① 효과 없음 ② 효과 있음 ③ 아직 잘 모름

12. 귀하는 미생물제제 사용에 대한 기대효과가 무엇이라고 생각하십니까?

- ① 돼지 생육 환경개선 ② 청정한 사육 환경 ③ 악취 민원 해소
④ 악취 처리 비용절감 ⑤ 양돈의 품질향상 ⑥ 기타()

13. 귀하는 향후에도 미생물제제 지원 사업이 필요하다고 생각하십니까?

- ① 매우 필요함 ② 필요함 ③ 보통 ④ 필요하지 않음 ⑤ 전혀 필요하지 않음

14. 미생물제제 지원 사업에 대해 건의하실 내용이 있으면 자유롭게 말씀하여 주세요.

D 응답자 현황

성 별	① 남 ② 여
연 령	만 ()세
직 업(복수)	① 축산업 ② 농업 ③ 제조업 ④ 판매 등 서비스업 ⑤ 전문직 ⑥ 기타()
소득수준	① 1,000만원 미만 ② 2,000만원 미만 ③ 3,000 미만 ④ 5,000만원 미만 ⑤ 1억원 미만 ⑥ 1억원 이상

No.

전라북도 미생물 제제 활용 효과 인식 설문지 <주민 설문 조사>

A 축산업에 대한 지역 주민 의식 조사

1. 귀하는 지역내 축산업 규모에 대해 어느 정도 알고 계십니까?
① 매우 잘 알고 있음 ② 어느 정도 알고 있음 ③ 보통 ④ 모름 ⑤ 전혀 모름
2. 귀하는 지역의 축산업의 비중이 얼마나 된다고 생각하십니까?
① 매우 높음 ② 높은 편 ③ 보통 ④ 작은 편 ⑤ 매우 작음
3. 귀하는 지역경제 활성화에 가장 기여하는 산업이 무엇이라고 생각하십니까?
① 축산업 ② 과수농업 ③ 일반농업 ④ 제조업 ⑤ 관광산업
⑥ 기타 ()
4. 귀하는 축산업이 지역경제 활성화에 기여한다고 생각하십니까?
① 매우 그렇다 ② 그렇다 ③ 보통 ④ 그렇지 않다 ⑤ 전혀 그렇지 않다
5. 귀하는 축산업 발전을 위해 가장 중요한 것이 무엇이라고 생각하십니까?
① 쾌적한 사육 환경 ② 고품질의 축산품 생산 ③ 다양한 유통망 확대
④ 축산농가에 대한 보조금 지원 확대 ⑤ 전략적 홍보
⑥ 기타 ()

B 축산 악취에 대한 주민 의식 조사

6. 귀하는 축산분뇨가 지역 환경(악취, 오염 등)에 어느 정도 영향을 미친다고 생각하십니까?
① 매우 그렇다 ② 그렇다 ③ 보통 ④ 그렇지 않다 ⑤ 전혀 그렇지 않다
- 6.1 (6번 ①, ② 응답) 귀하는 축산 분뇨가 미치는 가장 심각한 영향은 무엇이라고 생각하십니까?

성 별	① 남 ②여
연 령	만 ()세
거주지	_____시/군 _____읍/면
직 업	① 사무직 ② 공무원 ③ 농업 ④ 기술/제조업 ⑤ 서비스업 ⑥ 주부 ⑦ 무직 ⑧ 학생 ⑨기타()
소득수준	① 1,000만원 미만 ② 2,000만원 미만 ③ 3,000 미만 ④ 5,000만원 미만 ⑤ 5,000만원 이상
최종학력	① 초등학교 이하 ② 중학교 이하 ③ 고등학교 이하 ④ 대학교 이하 ⑤ 대학원 이상

○ 본 설문조사에 응답해 주셔서 진심으로 감사드립니다.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명자원산업화기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명자원산업화 기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.